Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf

und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

Die Wirkung von Kohlenoxid, Blei, Cadmium und Tod des Gesamtorganismus auf die Nierenrinde.

Autoradiographische Untersuchungen nach Inkubation in H3-Leucin-haltigem Medium.

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ulrich Tritz
Felicitas Tritz-Rommerskirchen

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544318_0020

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf

und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

Die Wirkung von Kohlenoxid, Blei, Cadmium und Tod des Gesamtorganismus auf die Nierenrinde.

Autoradiographische Untersuchungen nach Inkubation in H3-Leucin-haltigem Medium.

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ulrich Tritz
Felicitas Tritz-Rommerskirchen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. A. Hopf

Referent
gez.: Prof. Dr. W. Hilscher

Korreferent
gez.: Prof. Dr. M. Strassburg

Druck und Einband: Rudolf Stehle GmbH & Co KG - Düsseldorf

Unseren Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Versuchsplanung und Versuchsdurchführung
der Versuche Cadmium und Tod:

Felicitas Tritz-Rommerskirchen

Versuchsplanung und Versuchsdurchführung
der Versuche Blei und Kohlenoxid:

Ulrich Tritz

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Allgemeines zu den Versuchen	
2.1	Versuchstiere	2
2.2	Letaldosis	3
2.3	Krebs-Henseleit-Lösung	4
2.4	H-3-Leucin	6
2.5	Histologische Technik	8
2.6	Autoradiographie	9
2.7	Silberkornzählung	10
2.8	Quantitativer Nachweis von Blei und Cadmium	14
2.9	CO-Konzentrationsmessung	15
3	Literatur	
3.1	Blei	18
3.2	Cadmium	22
3.3	Kohlenoxid	25
3.4	Tod	29

		Seite
4	Versuchsdurchführung	
4.1	Blei	31
4.2	Cadmium	39
4.3	Kohlenoxid	42
4.3.1	"Kurzzeit"-Versuch	42
4.3.2	"Langzeit"-Versuch	45
4.4	Tod	47
5	Ergebnisse	48
5.1	Blei	51
5.2	Cadmium	54
5.3	Kohlenoxid	64
5.3.1	"Kurzzeit"-Versuch	64
5.3.2	"Langzeit"-Versuch	68
5.4	Tod	76
5.5	Zusatzversuche	80
6	Diskussion	81
7	Zusammenfassung	88
8	Literaturverzeichnis	

Abkürzungen

EEG	Elektroencephalogramm
GM	Geometrisches Mittel
H3-Leu	H3-Leucin
IMP	Impulse aus SEV, entstanden durch Verstärkung des von Silberkörnern reflektierten Lichtes
KG	Körpergewicht
KHL	Krebs-Henseleit-Lösung
LD	Letaldosis
LQ	Lichtquelle
Lsg	Lösung
NVL	Niedervoltleuchte für Messblendenbeleuchtung
ppm	parts per million
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher, Photomultiplier
TeS	Teilerspiegel
TriS	Tripelspiegel
URAS	Ultrarotabsorptionsspektrometer
VB	Vertrauensbereich für GM
ZNS	Zentralnervensystem
/ x /	Literaturhinweis x, siehe Literaturverzeichnis
*	unbehandeltes Kontrolltier in H3-Leucin inkubiert

1 Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird eine Inkubationsmethode beschrieben, bei der entkapselte Rattennieren in H3-Leucin-haltige Krebs-Henseleit-Lösung gebracht und mit einem Sauerstoff/CO_2-Gemisch umströmt wurden.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, festzustellen, ob das angewandte Verfahren besser geeignet ist, leichte Veränderungen nach Einwirkung von Noxen festzustellen als die gängigen histologischen und histochemischen Untersuchungen. Als Indikator für eine stattgefundene Veränderung diente im vorliegenden Fall die Silberkorndichte, welche die Einbaurate von H3-Leucin in die äussere Schicht der Nierenrinde als Mass für die Intensität des Proteinstoffwechsels der jeweils vorbehandelten Niere im untersuchten Rindenbereich anzeigte.

Als Noxen dienten:

1. verschieden hohe Dosen Blei
2. verschieden hohe Dosen Cadmium
3. verschieden hohe Dosen Kohlenoxid (CO)
4. eine durch Tötung der Versuchstiere und anschliessende unterschiedlich lange Verweildauer der Nieren im toten Tier hervorgerufene Aufhebung der Nierenblutzufuhr.

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten weibliche Albinoratten (Wistar-W. U. Kissleg) aus der Koloniezucht der Firma S. Ivanowas, die ein durchschnittliches Körpergewicht von 180 ±20 g hatten.

Die Haltung der Tiere erfolgte in Makrolon(R)-Käfigen (maximal 6 Tiere je Käfig). Die Tiere erhielten Wasser und Standard-Labor-Futter der Firma Hope Farms ad libitum.

2.2 Letaldosis

In Anlehnung an den aus der Pharmakologie stammenden Begriff der effektiven Dosis (ED) bzw. Wirkdosis (WD) ist der Begriff der Letaldosis (LD) geschaffen worden.

Die Wirkdosis gibt an, wieviele Individuen eines Kollektivs in ganz bestimmter Weise auf eine Dosis eines verabreichten Pharmakons reagieren. Gebräuchlich ist die Angabe der Dosis, bei der 50% der Individuen die erwartete Wirkung zeigen; sie wird mit WD_{50} bezeichnet.

Analog bezeichnet man mit LD_{50} diejenige Dosis eines in den Organismus aufgenommenen Stoffes, durch welche 50% der Individuen eines Kollektivs getötet werden. Selbstverständlich sind WD sowie LD abhängig von der Spezies, aber auch von Körpergewicht, Alter und Geschlecht.

/ 13, 20 /

2.3 Krebs-Henseleit-Lösung

Um die Stoffwechselprozesse isolierter Organe oder Gewebsstücke aufrecht erhalten zu können, bedarf es einer Nährlösung, die entweder als Perfusions- oder als Inkubationslösung dient.

Hier bietet sich die 1932 von H.A. Krebs und K. Henseleit angegebene "physiologische Salzlösung" an, die heute unter dem Namen Krebs-Henseleit-Lösung bekannt ist. Sie kommt dem Säugetierserum in bezug auf die anorganischen Salze näher als die (älteren) Tyrode-, Locke- oder Ringerlösungen. Unterschiede liegen vor allem im Kaliumgehalt, sowie im Vorhandensein von Magnesium, Phosphat und Sulfat. Nachfolgend eine Gegenüberstellung von drei Lösungen / 21 /:

Stoff	Säugetierserum (Mittelw.)	Ringerl.	Krebs-H.-L.
Na^+	etwa 320 mg-%	355 mg-%	327 mg-%
K^+	22 "	10,5 "	23 "
Ca^{++}	10 "	8,8 "	10 "
Mg^{++}	2,5 "	---	2,9 "
Cl^-	370 "	466 "	454 "
PO_4^{3-}	10 "	---	11 "
SO_4^{2-}	11 "	---	11,4 "
HCO_3^-	54 Vol%	56 Vol%	54 Vol%
CO_2 (38°)	2,5 "	2,5 "	2,5 "
pH	7,4	7,4	7,4

Bis heute hat es zahlreiche Modifikationen der ursprünglichen Krebs-Henseleit-Lsg gegeben. Die bei diesen Untersuchungen verwandte Variante wird durch Mischung folgender Stammlösungen hergestellt:

			m	Teile
1.	0,9 %	NaCl-Lsg	0,154	100
2.	1,15 %	KCl-Lsg	0,154	4
3.	0,11 %	$CaCl_2$-Lsg	0,110	3
4.	2,11 %	KH_2PO_4-Lsg	0,154	1
5.	3,82 %	$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$-Lsg	0,154	1
6.	1,30 %	$NaHCO_3$-Lsg	0,154	2

Der pH-Wert wird auf 7,2 eingestellt. Dies beruht auf Erfahrungen, die bei der Zellkultur und Gewebezüchtung gewonnen wurden, wonach Zellen bzw. Gewebe unter diesen Bedingungen die günstigste Stoffwechsellage haben, d.h. die grösste Wachstumsrate zeigen.

Die fertige Lösung wird mit Carbogen (95% O_2 und 5 Vol% CO_2) durchperlt, damit genügend Kohlensäure vorhanden ist, die Bildung von Calcium- und Magnesiumniederschlägen zu verhindern.

Aminosäurenhaltige Nährmedien, wie z.B. das "Minimum Essential Medium" (EAGLE), sind für Versuche, bei denen der Einbau einer markierten Aminosäure als Mass für den Stoffwechsel eines Organs dient, ebenfalls geeignet. Jedoch wird der Versuchsablauf durch die Anwesenheit weiterer Aminosäuren, insbesondere von nicht markiertem Leucin, komplizierter und die Auswertung der Versuche schwieriger.

Wir entscheiden uns deshalb für die Verwendung der Krebs-Henseleit-Lsg als Nährmedium, obwohl bekannt ist, dass das Stoffwechselgeschehen durch das Fehlen von Aminosäuren und Kohlenhydraten beeinträchtigt wird.

2.4 H-3 - Leucin

Leucin ist nicht nur für den Menschen, sondern auch für die Ratte eine essentielle Aminosäure. Sie wird von den Zellen verstoffwechselt und ist nach dem Einbau in das Organ quantitativ nachweisbar, wenn sie markiert ist.

Eine in den verschiedensten Disziplinen verbreitete Methode, Moleküle aus einem Pool gleicher Moleküle heraus identifizieren zu können, besteht darin, einzelne Atome dieser Moleküle vor dem Vermischen durch Isotope zu ersetzen, die im natürlichen Isotopengemisch nicht vorkommen. So markiert man z.B. Vitamin B_{12} mit Co-60, Methionin mit C-14, Thymidin mit H-3 und auch Leucin mit H-3.

Das Wiederauffinden solcher Moleküle gelingt nun dadurch, dass die Radionuklide sich im Laufe der Zeit, direkt oder auf Umwegen über weitere instabile Elementformen, in stabile, im natürlichen Isotopengemisch vorkommende Elemente umwandeln. Dabei wird Energie freigesetzt, deren Betrag für die meisten Radionuklide genau bekannt ist. Träger dieser Energiebeträge sind Elementarteilchen, um zum Beispiel H-3 - Leucin zurückzukehren, ein Elektron.

Das Zerfallsschema des Tritiums verdeutlicht nochmals diesen Vorgang:

$$ {}^{3}_{1}\mathrm{H} \xrightarrow[12{,}346\ \mathrm{a}]{\beta^- \ (0{,}02\mathrm{keV})} {}^{3}_{2}\mathrm{He} $$

Das instabile Tritium wandelt sich innerhalb von 12,346 Jahren (Halbwertszeit) zur Hälfte in das stabile Heliumisotop He-3 um.

Die freiwerdenden β^- - Teilchen können durch ihre Wechselwirkung mit Materie, z.B. Ionisation, nachgewiesen werden.

2.5 Histologische Technik

Für die Fixation von Geweben hat sich das BOUINsche Gemisch bewährt. Es besteht aus

15 Teilen ges. Pikrinsäure,
5 Teilen Formalin und
1 Teil Eisessig.

Ein weiterer Schritt ist die Anfertigung von Schnitten. Dazu muss das Probenmaterial in einen schnittfesten Zustand homogener Stabilität gebracht werden. Besser als durch Einfrieren des Gewebes, was oft zu dicke Schnitte ergibt, gelingt das durch die Einbettung des Materials in Paraffin (feste Alkane), wobei nach Abkühlung ein fester Block entsteht, der dann geschnitten werden kann.

Um jedoch eine völlige Durchtränkung der Gewebsprobe mit dem wenig polaren, hydrophoben Paraffin zu erreichen, muss die Probe nach der Fixierung dehydratisiert werden. Man spült dazu das Gewebe in einer sogenannten aufsteigenden Alkoholreihe: 2 - 4 Stunden in 10 - 60%igem, dann 12 - 24 Stunden in 70 - 90%igem Äthylalkohol; die Zeiten richten sich nach Wassergehalt und Grösse der Proben. Bequem durchzuführen ist dieser Spülvorgang, bei dem auch schon eine gewisse Härtung eintritt, mit dem automatisch arbeitenden Autotechnicon der Firma The Technicon Company, Chauncey, New York, USA.

Nach Spülung in Aceton kann die Einbettung vorgenommen werden.

2.6 Autoradiographie

Zur Messung radioaktiver Strahlung aus Proben oder Organismen stehen heute zahlreiche Verfahren zur Auswahl. Für welches Verfahren man sich entscheidet, hängt u.a. von Strahlungsart, Strahlungsintensität, Form und Grösse des zu untersuchenden Objektes und der geforderten Genauigkeit der Messung ab.

In der Medizin hat neben der Szintigraphie (für in-vivo-Messungen) und verschiedenen anderen Verfahren, z.B. Aktivierungsanalyse (für in-vitro-Messungen) auch die Autoradiographie noch ihren Platz.

Die Autoradiographie ist eines der ältesten Verfahren zum Nachweis radioaktiver Strahlung. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Die aus dem zu untersuchenden Objekt emittierte Strahlung, z.B. die ß- und γ-Strahlung beim Nachweis von J-131 bei Jodstoffwechseluntersuchungen, fällt auf eine photographische Schicht. Wird diese Schicht hinreichend lange der Strahlung ausgesetzt, so zeigen sich nach der üblichen photographischen Entwicklung geschwärzte Stellen. Sie zeigen die Lage der Aktivität im Präparat, das sich mit der photographischen Platte in Kontakt befand. Der Grad der Schwärzung ist dabei in gewissen Dosisgrenzen ein Mass für die Strahlungsintensität.

Wir verwandten bei unseren Versuchen folgenden Film: Kodak Stripping Film AR 10.

2.7 Silberkornzählung

Bei der Belichtung eines Films, z.B. Strahleneinwirkung auf eine photographische Platte, findet folgende Reaktion statt:

$$2\ Ag^{+}Br^{-} \longrightarrow 2\ Ag + Br_2 .$$

Die Silberhalogenide AgBr oder AgCl sind dabei in einer Gelatineschicht eingebettet, die das entstehende Brom (Chlor) bindet. Bei der Entwicklung und Fixierung des Films werden die in ihrer Gitterordnung mehr oder weniger gestörten Silberhalogenidkörnchen zu metallischem Silber reduziert, die Halogene ausgewaschen und unbelichtetes AgBr bzw. AgCl entfernt. Auf dem entstandenen Negativ erscheinen die Stellen am meisten geschwärzt, die am meisten der Strahleneinwirkung ausgesetzt waren; dort ist die Silberkorndichte am höchsten.

Wird nun die Forderung gestellt, ein Autoradiogramm quantitativ auszuwerten, so bestehen zwei Möglichkeiten diese zu erfüllen:

1. visuelle Zählung,
2. automatische Zählung der Silberkörner

Da die Grösse der Silberkörner unter 1 μ liegt, ist es selbstverständlich, dass unter dem Mikroskop gezählt werden muss. Allerdings existieren zwei Wege der Beleuchtungsführung, nämlich die Durchlichtbeleuchtung und die Auflichtbeleuchtung. DÖRMER befasst sich in seinem Vortrag "Erfahrung mit der photometrischen Silberkornzählung in der Autoradiographie" /7/ mit der Problematik automatischer Silberkornzählungen und legt dar, dass die Auflichtbeleuchtung dem Mikroskopieren im Durchlicht überlegen ist.

Abbildung 1 zeigt eine schematische Skizze der verwendeten Apparatur. Es handelt sich um das Mikroskopphotometer MPV der Firma ERNST LEITZ GmbH.

Mit Hilfe dieses Gerätes lässt sich die Menge der Silberkörner pro Flächeneinheit zählen, und zwar automatisch. Das heisst, das Licht der Auflichtbeleuchtung wird von den Silberkörnern reflektiert und nach Durchgang durch ein optisches System in einem Sekundärelektronenvervielfacher (Photomultiplier) in verstärkte elektrische Signale umgewandelt. Das reflektierte Licht wie auch die elektrischen Signale aus dem Photomultiplier, die einem Zählwerk zugeführt werden, sind in weiten Bereichen der Silberkornzahl, und damit der Aktivität im Präparat, proportional.

Werden nicht bestimmte Silberkorndichten miteinander verglichen, sondern absolute Werte gesucht, so ist das Gerät mit bekannten Silberkorndichten zu eichen; eine bestimmte Anzahl von Impulsen, die im Zählwerk registriert wurden, entspricht dann der zugehörigen Silberkorndichte.

Bei der Durchführung einer Zählung ist weiterhin zu beachten, dass der sog. "Untergrund" oder Background abzuziehen ist. Dieser Background setzt sich aus drei Teilen zusammen:

1. Auflicht, das von Teilen des Films reflektiert wird, die nicht, oder nicht direkt durch die radioaktive Strahlung belichtet wurden,
2. Fehler, die durch die Messanordnung bedingt sind, z.B. Lichtstreuung an Linsenflächen, Reflexion des Lichtes an optischen Grenzflächen, thermische Elektronenemission der Photokathode.

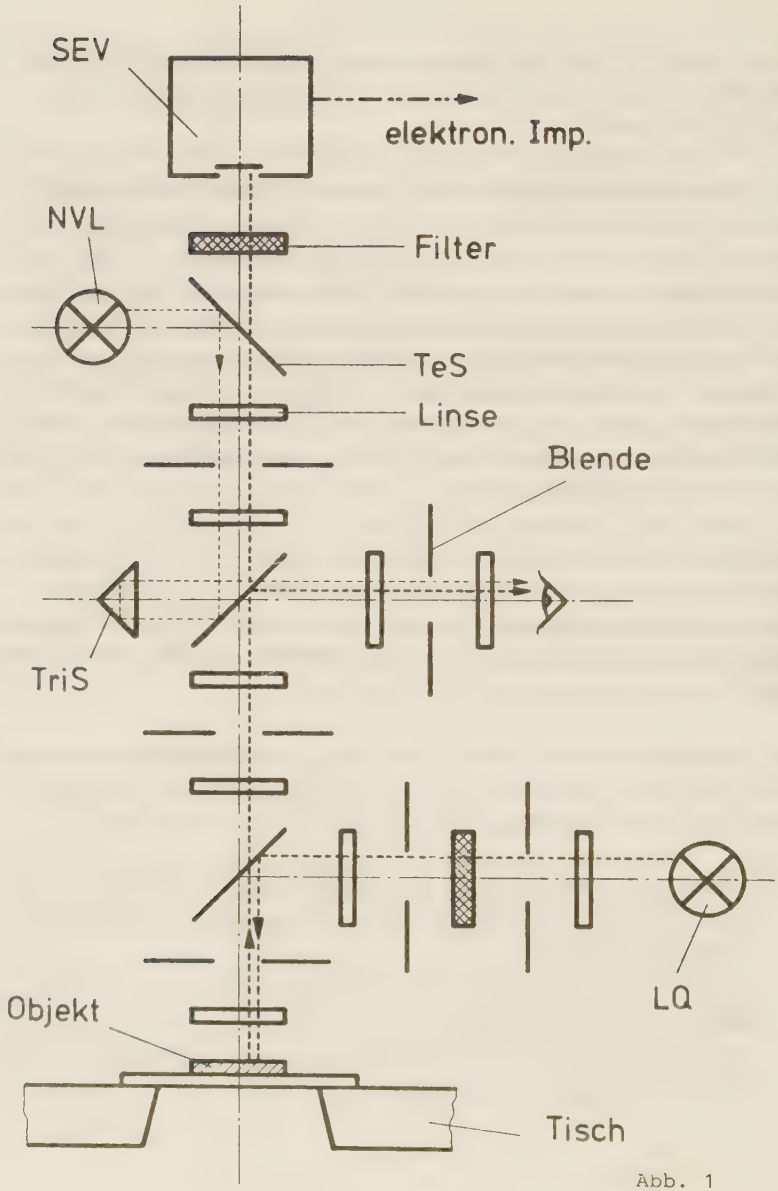
SEV
elektron. Imp.
NVL
Filter
TeS
Linse
Blende
TriS
LQ
Objekt
Tisch

Abb. 1

3. Silberkörner, die entstanden sind durch den Zerfall von Leucin-Bruchstücken. Durch Radiolyse kommt es in der H3-Leucin-haltigen Lösung zum Auftreten von strahlenden Leucin-Fragmenten (Impurities), bei deren Retention oder Einbau im Gewebe ein Leucin-Einbau vorgetäuscht wird.

2.8 Quantitativer Nachweis von Pb und Cd

In seinem Artikel "Quantitativer Nachweis von Blei, Cadmium und Zink in Blut und Organen" / 3 / beschreibt BROCKHAUS das Vorgehen bei der Untersuchung biologischen Materials auf Metalle. Die für quantitative Analysen von kleinsten Metallmengen gängigen Verfahren - Emissionsspektrographie, Inverspolarographie und Atomabsorptionsspektroskopie - werden skizziert. Das Fazit ist, dass die Methoden relativ aufwendig und anfällig gegen systematische Fehler sind.

Da in unseren Versuchen eine verhältnismässig grosse Zahl von Versuchstieren verwendet wurde, haben wir uns aus den oben aufgeführten Gründen, nach Rücksprache mit Herrn Dr. Brockhaus, Abteilung Chemie des Instituts für Lufthygiene und Silikoseforschung der Universität Düsseldorf dazu entschlossen, auf einen quantitativen Nachweis von Blei und Cadmium im Blut und in den Organen der Ratten zu verzichten. Ausserdem wurde kein konstanter Blut-Blei-Spiegel bzw. Blut-Cadmium-Spiegel aufrechterhalten (einmalige Injektion!), weswegen eine Messung des Blutspiegels ohnehin wenig aussagekräftig gewesen wäre.

2.9 CO - Konzentrationsmessung

Abbildung 2 zeigt schematisch die Versuchsanordnung bei den Versuchen mit Kohlenoxid (siehe 4.3.1 bzw. 4.3.2).

Da keine Einrichtung zur genauen Dosierung der Luft- und CO-Mengen, die in die Versuchskammer strömten, vorhanden war, musste diese Dosierung durch Einstellungen von Hand erfolgen. Durch konstantes Absaugen von Gasproben aus der Versuchskammer konnte mit Hilfe eines Ultrarotabsorptionsspektrometers (URAS) der CO - Anteil des Gasgemisches festgestellt werden. Durch mehrmaliges Nachstellen der Druckminderventile an Gasflasche und Kompressor wurde schliesslich die gewünschte Zusammensetzung der Atemluft erzielt.

Die Bestimmung der Kohlenoxidkonzentration erfolgte folgendermassen:

Aus der Versuchskammer wurde Gasgemisch durch eine Pumpe abgesaugt. Der restliche Inhalt der Kammer konnte frei entweichen (durch Nachschub von Frischgas). Von der konstant abgesaugten Gasprobe wurde durch eine Mischpumpe Versuchskammerluft im Verhältnis von 1 : 24 mit Frischluft vermischt, so dass eine Verdünnung eintrat. Diese war aus technischen Gründen, die im URAS und in dem diesem nachgeschalteten Schreiber lagen, erforderlich.

Um Wasserdampf und CO_2, die die Analyse im URAS stören, aus dem verdünnten Gasgemisch zu entfernen, wurde es durch H_2SO_4 und KOH geleitet. Jetzt erst konnte die eigentliche CO - Konzentrationsbestimmung mit Hilfe des URAS erfolgen:

Die Gasprobe wird von kontinuierlicher Ultrarotstrahlung durchstrahlt. Haben zu untersuchende Gasmoleküle und elektromagnetische Schwingung die gleiche Frequenz, gehen die Moleküle in einen angeregten Zustand über, was eine Energieabsorption aus dem Spek-

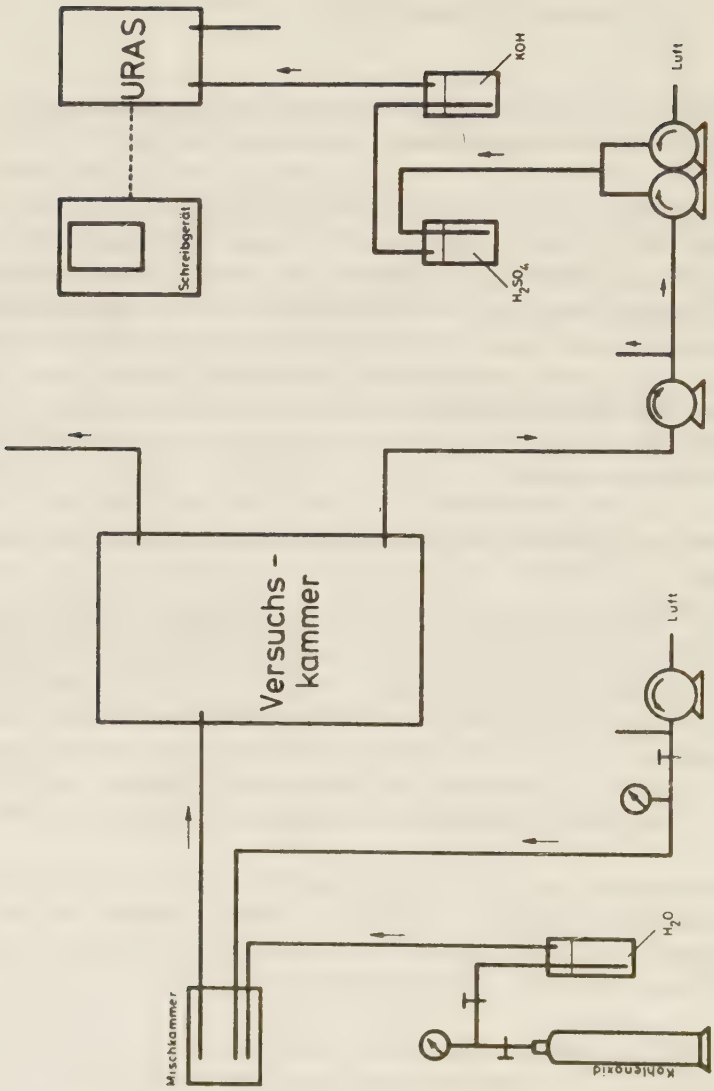
URAS
Schreibgerät
KOH
H_2SO_4
Luft
Versuchs-
kammer
Luft
H_2O
Kohlenoxid
Mischkammer

Abb. 2

trum der Ultrarotstrahlung bedeutet. Die angeregten Moleküle gehen nach kurzer Zeit in den Grundzustand über. Die kontinuierliche Ultrarotstrahlung wird durch einen Monochromator (Gitter) in ihre einzelnen Frequenzen zerlegt, wobei die Energieabsorption durch die Gasmoleküle durch Bestimmung der Intensitäten bestimmter Frequenzen nachgewiesen werden kann. / 23 /

Die Ausgangssignale des URAS wurden mit einem Schreibgerät aufgezeichnet. Um aus diesen Aufzeichnungen auf den CO - Gehalt der Gasproben schliessen zu können, die aus der Atemluft der Versuchstiere stammten, musste eine Eichung der Kombination URAS/Schreiber vorgenommen werden. Für den Nullwert wurde dem URAS Frischluft zugeführt, für einen zweiten Wert der linearen Beziehung CO - Konzentration zu Schreiberausschlag reines Kohlenoxid.

3 Literatur

3.1 Blei

Blei (Pb) gehört zu den Schwermetallen. Es hat ein relatives Atomgewicht von 207,2, die Ordnungszahl ist 82. Blei gehört im Periodischen System der Elemente in die vierte Hauptgruppe. In den anorganischen Verbindungen liegt es meist 2-wertig vor, in den org. Verbindungen meist 4-wertig. Sein Schmelzpunkt liegt bei 328°C, sein Siedepunkt bei 1500°C.

Bleivergiftungen sind die häufigsten gewerblichen Vergiftungen.

Die nicht gewerblich bedingte Aufnahme von Blei geschieht mit der Nahrungsaufnahme und durch die Atemluft.

Verteilung und Elimination

Im Blut wird Blei zu 90% an Hämoglobin gebunden. Die normale Blutbleikonzentration beträgt bis 20 µg/100 ml. Vom Blut aus wird Pb in Knochen, Niere und Leber abgelagert, es sind aber auch geringe Bleikonzentrationen in Gehirn, Herz und Muskeln nachzuweisen.

Die Bleiausscheidung erfolgt zu 75% über den Urin, zu 15% über Faeces, zu 10% über Haare, Schweiss und Muttermilch.
Exakt messbar ist nur die Ausscheidung im Harn, da sich das Pb, das aus dem Blut und der Leber in den Darm ausgeschieden wird, mit den nicht resorbierten Blei-Anteilen der Nahrung vermischt und davon nicht zu trennen ist.

Die Bleiausscheidung entspricht bis auf einen kleinen Teil der aufgenommenen Bleimenge. Die Differenz wird im Organismus zum grössten Teil von den Knochen in Form des schwer löslichen tertiären Bleiphosphats gebunden. Dieses Bleidepot steigt im Laufe des Lebens durch Akkumulation auf durchschnittlich 190 mg an (Durchschnittswert für einen 60 - 70 Jahre alten Mann, bei Frauen liegt er etwas niedriger / 28 /). Dieser Wert macht etwa 90 - 95% des Gesamtbleigehalts des Körpers aus. Der Bleispiegel im Blut lässt keine Rückschlüsse auf den Gesamtbleigehalt des Körpers zu. Da eine Korrelation zwischen Bleispeicherung in den Knochen und in den Haaren besteht, lässt sich eine Angabe über den Gesamtbleigehalt des Körpers aus einer Bleianalyse der Haare machen.

Die Bedeutung des Bleidepots in den Knochen ist noch nicht geklärt. Man weiss, dass Azidose (Fieber, Arbeit), Störungen im Ca-P-Stoffwechsel, Verabreichung von Na_2Ca - ÄDTA das Blei aus dem Knochen mobilisieren können.

Wirkungen akuter Bleiaufnahme

Akute Vergiftungen treten selten auf, Beispiele sind die Einnahme von Salzen (5 - 10 g) in suizidaler Absicht und Inhalation von konzentrierten Bleidämpfen. Die klinischen Symptome sind: Übelkeit, starke Leibschmerzen, spastische Obstipation. Es treten Leberschädigung, hypochrome Anaemie und Nierenschädigung auf. So wurden z.B. nach schwerer Kurzzeitexposition bei Kindern Veränderungen am proximalen Tubulus mit Ausbildung eines Fanconi-Syndroms beobachtet, einhergehend mit Aminoacidurie, Glucosurie, Phosphaturie mit Hypophosphataemie.

Der Tod tritt frühestens nach 3 - 4 Tagen, manchmal erst nach Wochen ein.

Wirkungen chronischer Bleiaufnahme

Chronische Vergiftungen treten wesentlich häufiger auf. Sie entstehen durch die oben schon erwähnten Vergiftungsmöglichkeiten. Dabei wirken organische Verbindungen hauptsächlich auf das ZNS, anorganische Verbindungen u.a. auf Hämsynthese, Knochen und hämatopoetisches System.

- Die Wirkung auf das hämatopoetische System führt zu einer hypochromen Anaémie (mit einem hohen Anteil basophil getüpfelter Erythrozyten) mit verkürzter Lebensdauer der Erythrozyten.
  Ursache dafür sind 3 unabhängige Mechanismen:
  1. Hemmung der δ-Aminolävulinsäuredehydrogenase, wodurch die Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn erheblich ansteigt (von 2 mg auf 10 mg per die)
  2. Hemmung der Decarboxylierung von Koproporphyrinogen III zu Protoporphyrin IX, die Ausscheidung von Koproporphyrin III im Harn steigt dadurch auf über 80 µg per die
  3. Hemmung des Eiseneinbaus in Protoporphyrin IX

Es wurde eine exponentielle Abhängigkeit der ALA-D-Aktivität vom Blutbleispiegel beobachtet; daher eignet sich die Bestimmung der ALA-D-Aktivität besonders für die Untersuchung der Allgemeinbevölkerung auf eine Bleibelastung.

- Wirkung auf das Nervensystem:
  a) peripher
     Schädigung der motorischen Nerven, besonders des N. radialis mit schmerzloser Radialisparese
  b) zentral
     Encephalopathie mit den Symptomen Ataxie, Koma, Krämpfe. Histologisch findet man ein Ödem mit Proliferation der

Gliazellen sowie fokale Nekrosen mit neuraler Degeneration. In der grauen und in der weissen Substanz lassen sich Astrozytenproliferationen beobachten.

- Renale Wirkung:
  Unspezifische Nephropathie als Folge der chron. Verengung der Kapillaren und Arteriolen in der Niere.
  Histologisch treten eine intensive interstitielle Fibrose auf, tubuläre Atrophie und Dilatation mit späterer Mitbeteiligung der Glomerula. Erhöhte Harnsäureausscheidung als Folge der tubulären Insuffizienz und Hyperuricämie.

- Teratogene und andere reproduzierbare Wirkungen:
  Bei Frauen, die in der Bleiindustrie arbeiten, wurden gehäuft Sterilität, Tot- und Frühgeburten beobachtet. Blei ist toxisch für die Gameten und überwindet die Plazentaschranke.

Therapie

Zur Therapie anfallsartig auftretender Koliken und Encephalopathien sind Na_2Ca - ÄDTA und D-Penicillamin indiziert. Zur weiteren Behandlung der begleitenden Schmerzen bei Koliken sind Opiate kombiniert mit Atropin wirksam.

Bei der chron. Bleiintoxikation kommt ebenfalls das D-Penicillamin zur Anwendung.

Es ist bis heute noch nicht geklärt, inwieweit die oben beschriebenen Wirkungen des Bleis auf Hämatopoese, Nervensystem und Organe Bedeutung haben für die Bleibelastung, der die Menschen heute ausgesetzt sind.

/2, 15, 17, 25, 26, 28/

3.2 Cadmium

Cadmium (Cd) wurde 1817 von Stromeyer (Göttingen) und unabhängig davon von Roloff (Magdeburg) entdeckt. Cadmium steht im Periodensystem der Elemente in der zweiten Nebengruppe und kommt meist zweiwertig vor. Sein relatives Atomgewicht beträgt 112,4, seine Ordnungszahl ist 48.

Für die Kontamination beruflich nicht exponierter Menschen hat der Cd-Gehalt der Luft, der Nahrung und der Zigaretten Bedeutung. Der Cd-Gehalt der Luft in einem Gebiet, das nicht der Cd-Kontamination durch Industrie und Grossstadt ausgesetzt ist, beträgt durchschnittlich 0,001 /ug/m^3. Der Cadmiumgehalt in der Luft einer Grossstadt wird mit durchschnittlich 0,03 /ug/m^3 angegeben. Der grösste Teil der Cadmium-Immission ist jedoch auf die Industrie zurückzuführen / 5 /.

Die Aufnahme von Cadmium in den menschlichen Organismus geschieht über zwei verschiedene Wege:

1. Durch Inhalation über die Lunge,
2. durch Ingestion.

Bei der Aufnahme von Cadmiumpartikeln (0,01 - 5 /u Partikelgrösse) über den Respirationstrakt entwickelt sich innerhalb von 24 Stunden in der Lunge ein Ödem, das zum Tode führen kann. Dieses Ödem ist Folge einer Membranschädigung durch direkte Einwirkung des Cadmiums auf das Lungenparenchym. Bei Überleben dieser Situation stellt die nachfolgende fibröse, obliterierende Bronchiolitis eine weitere Lebensgefahr dar.

Das resorbierte Cd gelangt über das Blut in die Leber, wo es an ein Transportprotein, das Metallothionin, gebunden wird. Die Anwesenheit von Cd im Blut induziert eine weitere Synthese

dieses Proteins in Leber und Niere. Das Protein ist aber nicht als Cd-spezifisches Protein zu werten, da seine Synthese ebenfalls durch andere Metalle, wie z.B. Blei und Quecksilber, induziert wird / 5 /. Von der Leber aus gelangt der Metallothionin-Cd-Komplex in die Niere, wo er zunächst das Glomerulumfilter passiert und dann von den Tubuluszellen wieder resorbiert wird. Hier wird der Komplex entkoppelt, das Cd wird in der Zelle deponiert und das Metallothionin kehrt auf dem Blutweg wieder in die Leber zurück, um dort erneut Cd aufnehmen zu können. Erst bei einer Schädigung der Niere wird Cd im Urin nachgewiesen.

Bei der Resorption des Cadmiums über den Gastrointestinaltrakt wird das Cd schon in der Mukosa an das Metallothionin gekoppelt und gelangt dann in den Blutkreislauf / 24 /. Durch die eiweissdenaturierende Wirkung von Cd kann es zunächst zu einer lokalen Wirkung im Magen-Darm-Trakt kommen, die mit starken gastrointestinalen Symptomen einhergeht.

Für Cadmium besteht z. Zt. ein MAK-Wert von 0,1 mg/m^3 Luft. Das mit der Nahrung aufgenommene Cd soll maximal 0,5 mg/Woche betragen / 13 /.

Bei den Vergiftungen durch Cd kann man die Folgen einer akuten Intoxikation von denen einer chronischen unterscheiden. Die Symptome der akuten Intoxikation, wie das toxische Lungenödem und die gastrointestinalen Symptome, wurden oben schon beschrieben. Die chronische Intoxikation zeigt folgende Symptome:

- Eine Schädigung der Niere durch degenerative Veränderungen im proximalen Tubulus (durch direkte Cd-Wirkung) und im Glomerulum führen zur Proteinurie, evtl. begleitet von einer Glucosurie und Ausscheidung von Aminosäuren. Die Proteinurie ist ein charakteristisches Symptom der chronischen Cd-

Intoxikation und ist gekennzeichnet durch die Ausscheidung eines spezifischen Globulins mit dem Molekulargewicht 20.000 - 30.000.

- Ein pathognomonisches Zeichen ist der gelbe Cadmiumsaum um den Zahnhals der Zähne.
- Die gestörte Nierenfunktion, die dadurch bedingten Störungen im Calcium-Phosphat-Stoffwechsel und die hemmende Wirkung von Cd auf die Produktion des Vitamin D Metaboliten 1,25 - OH - Cholecalciferol führt zu einer Osteoporose und Osteomalazie.
- Ebenfalls auf die Nierenschädigung zurückzuführen ist das Auftreten einer Hypertonie.
- Das Entstehen einer Anämie wird durch gesteigerte Hämolyse und verminderte Eisen-Resorption erklärt.

Weitere Symptome sind Kachexie, Schädigung der Keimzellen und degenerative Veränderungen der Schleimhäute des Respirationstraktes.

/ 6, 14, 18, 19, 22, 25 /

3.3 Kohlenoxid

Kohlenoxid (CO) ist ein Gas, das natürlicherweise ubiquitär in der Erdatmosphäre vorkommt. Der grösste Anteil in der Erdatmosphäre stammt aus dem Stoffwechsel der Meeresalgen, ein vernachlässigbar kleiner Teil stammt aus dem Pyrrolfarbstoffwechsel des menschlichen Organismus.

Die toxikologisch wirksamen Anreicherungen in der Luft jedoch entstehen bei Verbrennung von Kohlenstoff und seinen Verbindungen bei über 1000^{o}C oder bei Verbrennung unter Sauerstoffmangel, so bei den Verbrennungsgasen von Automotoren, im Tabakrauch, bei schlecht ziehenden Öfen.

Eine Gefahr liegt darin, dass das Gas farb-, geruch- und reizlos ist, somit das Vorhandensein dieses Gases nicht bemerkt wird. Der MAK-Wert für die CO-Konzentration in der Atemluft liegt heute bei 50ppm. Nach Untersuchungen des U.S. Department of Health entstehen in Städten mit grossem Verkehrsaufkommen Spitzenkonzentrationen von 100 - 300 ppm. Im Bereich von über 100 ppm treten ausser objektiven Leistungsbeeinträchtigungen schon subjektive Intoxikationszeichen wie z.B. Kopfschmerzen auf.

Das Kohlenoxid tritt mit der Atemluft in die Lungenalveolen ein und wird im Blut in der gleichen Weise wie O_2 an das zweiwertige Eisen des Hämoglobin gebunden. Die Affinität von CO zu HB ist jedoch 240mal grösser als die des Sauerstoffs. Daraus resultiert, dass CO Sauerstoff kompetetiv aus seiner Bindung verdrängt und somit die Transportfähigkeit des Blutes für O_2 beträchtlich einschränkt. Das entstandene Karboxi-Hämoglobin erschwert die Dissoziation des restlichen Oxi-Hb und damit die O_2-Abgabe an das Gewebe. Das Karboxi-Hb hat eine

kirschrote Farbe, die bei der Diagnostik der CO-Intoxikation von Bedeutung ist.

Neben dem Hämoglobin existiert noch ein weiteres sauerstoffübertragendes Pigment, das Myoglobin, dessen Affinität zu CO jedoch um ca. zwei Zehnerpotenzen geringer ist als bei Hb. Da das Hb über die Lunge das CO bindet bevor es zum Myoglobin gelangt, finden wir erst eine Hemmung der Monooxidasen durch CO bei tödlichen Vergiftungen.

Die Bindung von CO an Hämoglobin ist voll reversibel und abhängig von der CO-Konzentration in der Luft. Sinkt diese auf Null ab, so dissoziiert der CO-Anteil vom Hb wieder vollständig ab.

Die Toxizität des CO ist das Resultat der mangelnden O_2-Versorgung des Gewebes und der Anreicherung von metabolisch gebildeter Kohlensäure die vom HbCO nicht abtransportiert werden kann. Die toxische Wirkung des CO wird von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst:

1. Konzentration von CO in Atemluft
   Je höher die Konzentration, desto schneller wird der Gleichgewichtszustand zwischen CO-Konzentration im Blut und in der Atemluft erreicht.
2. Pro Zeiteinheit eingeatmetes Volumen
3. Dauer der Exposition
   Bei einer relativ hohen CO-Konzentration von 0,1 Vol% dauert es 1 Stunde bis 30% HbCO gebildet worden sind und 5 Stunden bis die tödliche Menge HbCO entstanden ist.
4. O_2-Bedarf des Gewebes
   Bei Fieber und schwerer körperlicher Arbeit z.B. sind geringere (30 - 40%) HbCO-Konzentrationen kritisch, als bei Ruhe (60 - 70%).

5. Vorhandene Hämoglobinkonzentration
   Bei Anaemie genügen geringere CO-Konzentrationen in der Luft, da durch die geringere Hb-Konzentration die zum Überleben entscheidende Sauerstoffbindungskapazität des Blutes herabgesetzt ist.

Die klinischen Symptome der CO-Vergiftung sind einmal die kirschrote Farbe des Blutes und bei einer langsam fortschreitenden Vergiftung Cheyne - Stokes'sche Atmung und eine starke Acidose.
Eine sehr schnell eintretende Vergiftung führt zu hypoxidotischen Krämpfen.

Zu den sekundären Folgen der Hypoxie gehören Myokard- und Leberschäden sowie Ausfälle im ZNS. Als Spätfolgen sind Leukoencephalopathien, Parkinsonismus, Herdepilepsien, periphere Lähmungen und Herzmuskelnekrosen in der Literatur genannt.

Die Therapie der CO-Vergiftung besteht in der Beatmung mit reinem Sauerstoff oder, besser noch wegen der Atmungsanregung, mit Carbogen (95% O_2, 5% CO_2). Um eine möglichst schnelle Beseitigung der Intoxikationssymptome zu erreichen, bietet sich die Sauerstoffbeatmung im Überdruck an. Weiter muss die Acidose behandelt werden. Eine andere Therapie besteht in der wiederholten Gabe von Methylenblau (1 - 2 mg/kg i.v.). Die Gabe von Analeptika ist kontraindiziert, da diese den O_2-Bedarf erhöhen und zentrale Degenerationserscheinungen provozieren.

In einer Arbeit von FODOR und WINNECKE über die unterschiedlichen Affinitätskoeffizienten von CO zum Hb bei Mensch und Tier wird beschrieben, dass das Rattenblut - im Vergleich zu Mäusen und Kaninchen - in seiner CO-Affinität dem Menschenblut am nächsten kommt. Die Autoren weisen aber gleichzeitig darauf hin, dass das Bindungsvermögen des Hb für Kohlenoxid beim

Menschen wesentlich höher liegt als bei den zum Vergleich herangezogenen Tierarten.

/ 9, 11, 12 /

3.4 Tod

Die Definition des Todes ist nicht eindeutig festgelegt. Es wird unterschieden zwischen dem klinischen Tod und dem sog. Hirntod.

Der klinische Tod ist charakterisiert durch tiefe Bewusstlosigkeit, zerebrale Areflexie und Ausfall der durch das Stammhirn gesteuerten Eigenatmung. Der klinische Tod wird festgestellt durch das Fehlen der Arterienpulse und Herztöne, durch die fehlende Atemkursion und die nicht nachweisbaren Kornealund Pupillenreflexe.

Der sog. Hirntod wird festgestellt mit Hilfe des EEG und durch Serienangiographie der grossen Hirngefässe. Das sog. Null-Linien-EEG ist eine isoelektrische Kurve, die besagt, dass die Hirnrinde in ihrer Funktion ausgefallen ist. Mit Hilfe der Serienangiographie wird ein intrakranieller Kreislaufstillstand nachgewiesen. Definitionsgemäss liegt ein Hirntod vor, wenn 1 Stunde lang ununterbrochen ein Null-Linien-EEG bei verschiedenen Ableitungen nachgewiesen ist und eine zerebrale Zirkulationsunterbrechung von 30 Minuten vorliegt / 16 /.

Zwischen dem klinischen und dem Hirntod existiert eine Phase des intermediären Lebens, auch Supravitalzeit genannt. Die Supravitalzeit ist gekennzeichnet durch das Überleben der Ganglienzellen des Gehirns und das Weiterbestehen gewisser zellulärer Leistungen durch anaerobe Glykolyse. So ist bis etwa 2 Stunden nach dem Tod eine Kontraktion der Skelettmuskulatur durch mechanischen Reiz möglich und eine Pupillenreaktion ist noch bis 20 Stunden nach dem klinischen Tod durch Sympathomimetika auszulösen / 27 /.

Dem klinisch festgestellten Tod folgt das Absterben der verschiedenen Organe, Gewebe und Zellen, unabhängig von der Todesart, als Folge der Anoxie der Zelle. Die unterschiedliche Sensibilität der Organe und Zellen auf die Anoxie lässt sich in der Wiederbelegungszeit ausdrücken. Sie hängt von verschiedenen gewebespezifischen Faktoren und der Temperatur ab. Sie beträgt beim Herz ca. 5 - 10 Minuten, bei der Niere ca. 30 Min. bzw. 6 Stunden, bei der Muskulatur 6 - 9 Stunden, für die Spermatozoen bis 20 Stunden. Knochen und Bindegewebszellen können noch länger überleben und ausserhalb des Körpers weitergezüchtet werden.

/1, 8/

4 Versuchsdurchführung

Als Versuchstiere dienten in allen Versuchen Albinoratten weiblichen Geschlechts mit einem durchschnittlichen Gewicht von 180 g.

4.1 Blei

Bei diesem ersten Versuch (Blei-Versuch) wurde zunächst das genaue Gewicht der Versuchstiere festgestellt. Mit Schwankungen von maximal $\pm$ 25 g betrug es bei allen 180 g.

Danach wurde den Tieren subcutan der Schadstoff verabreicht, wobei das Fell in der unteren Bauchgegend abgehoben wurde. Der injizierte Stoff war in diesem Fall Bleiacetat (PbAc). Auf diese Weise gelangte das Blei als wässrige Pb^{++} $(CH_3\text{-}COO^-)_2$-Lösung in ionaler Form in den Körper der Versuchstiere.

Die Dosen waren auf 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht, 60 mg Pb^{++}/kg und 20 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht festgelegt worden (LD_{50} für PbAc: ♂ 196 mg PbAc/kg Körpergewicht, ♀ 276 mg PbAc/kg Körpergewicht am zweiten Tag nach einer i.p.-Injektion von Bleiacetat / 20 /). Unsere höchste Dosis von 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht entspricht zwar ungefähr der LD_{50} (♀), jedoch haben wir das Bleiacetat s.c. injiziert und schon 24 Stunden nach der Injektion die Nieren entnommen.

Nach der folgenden Rechnung wurde die für die Injektion erforderliche Menge PbAc festgelegt:

180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht $\triangleq$ 282,5 mg PbAc/kg Körpergewicht
Bei einer 0,87 molaren Lösung:
180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht $\triangleq$ 1,0 ml PbAc-Lösung/kg Körpergewicht.

Die zu injizierende Menge der Lösung ergibt sich folgendermassen: ml zu injizierende Lösung = 1,0 ml · KG in kg.

Die 0,87 molare Stammlösung konnte durch Verdünnung auch für die beiden niedrigeren Dosierungen verwandt werden.

Schon vor dem Wägen wurde eine einfache Kennzeichnung der Tiere vorgenommen: Mit Filzschreiber wurden Querstriche auf dem Schwanz der Tiere angebracht. Da maximal 6 Tiere in einem Käfig gehalten wurden, war eine Identifizierung jedes Tieres und die Zuordnung zu einer Versuchsnummer ohne weiteres möglich.

Nach jeder Injektion - es wurde jeweils nur ein Tier aus dem Käfig genommen - folgte eine Wartezeit von 24 Stunden, in der die Tiere bei üblichem Futter in ihren normalen Käfigen gehalten wurden.

Nach Ablauf dieser Wartezeit wurden die Ratten der Reihe nach in ätherhaltiger Atmosphäre anaesthesiert. In tiefer Narkose wurde ihnen jeweils die linke Niere entnommen, wobei sie ausbluteten. Nach Eröffnen von ventral wurde die Niere erst aus ihrer Fettkapsel, dann aus ihrer fibrösen Kapsel freipräpariert; danach wurde sie von dem sie versorgenden Gefäss, der Arteria renalis abgetrennt, worauf eine pulsierende Blutung einsetzte.

Die abgetrennte, entkapselte Niere wurde in einem Bad mit Krebs-Henseleit-Lösung abgespült, um oberflächliches Blut zu

entfernen. Sodann wurde sie, in Krebs-Henseleit-Lösung liegend, mit sauberem Skalpell in einen oberen und einen unteren Teil zerschnitten. Zur weiteren Untersuchung verwendeten wir nur die oberen Hälften. Sie wurden nunmehr an einem Faden, der mit einer kleinen Klemme an den Resten der Gefässe befestigt war, in das Inkubationsbad gehängt. Als Inkubationslösung wurde die unter 2.3 beschriebene Krebs-Henseleit-Lösung verwendet, der radioaktiv markiertes Leucin zugesetzt war: 48,75 ml Krebs-Henseleit-Lösung + 1,25 ml H-3-Leucin = 50 ml Inkubationslösung.

Eine Stunde lang blieben die Nierenhälften in dieser Lösung, die auf einer Temperatur von 37°C gehalten wurde (Abb. 3). Der pH-Wert der Lösung war während dieser Zeit konstant 7,2, was mit Spezialindikator-Papier der Firma MERCK überprüft wurde (Carbogen-Durchperlung!).

Nach Ablauf von 60 Minuten wurden die Organhälften aus der leucinhaltigen Lösung genommen und in BOUIN'scher Lösung fixiert. Dieser Vorgang dauerte 48 Stunden. Die Kennzeichnung der Nierenhälften erfolgte durch kleine Papierstreifen, die die Versuchsnummer des betreffenden Versuchstieres trugen.

Die anschliessende Dehydratation in Alkohol erfolgte in einem automatisch arbeitenden Gerät, dem Autotechnicon der Firma The Technicon Company, Chauncey, New York, USA. Hierbei lag jede Nierenhälfte in einer separaten, mit vielen Löchern versehenen Metallkapsel. Über 12 Stunden wurden diese Organproben nacheinander in immer höherprozentige Alkoholbäder getaucht, so dass die Reste des Fixationsmittels und das Wasser weitgehend aus dem Gewebe entfernt wurden.

Der nun folgende Arbeitsgang war das Einbetten der Organhälften in Paraffin und das Schneiden der dabei entstehenden

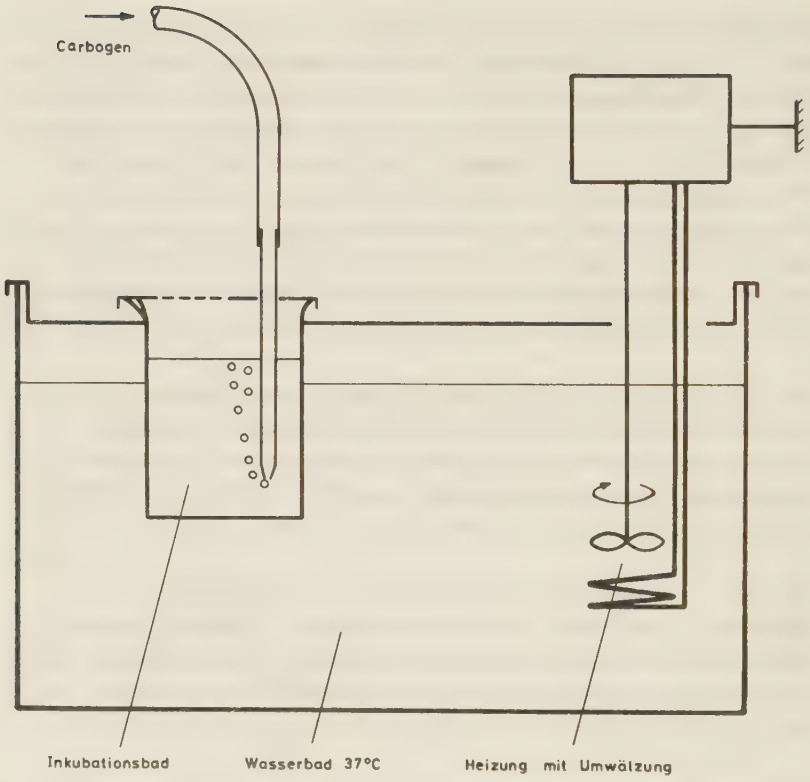
Carbogen
Inkubationsbad
Wasserbad 37°C
Heizung mit Umwälzung

Abb. 3

Blöcke. Auf einem Serienschnittmikrotom wurden ca. 10 µ dicke Schnitte angefertigt, und zwar derart, dass die Nierenhälften vom Pol zur Schnittstelle in Nierenmitte getroffen wurden.

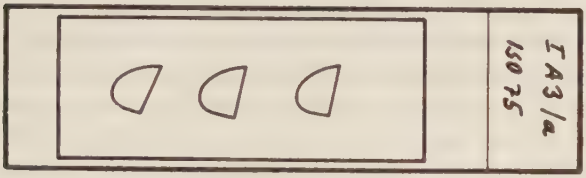

Abb. 4

Die Schnitte wurden auf Objektträger aufgebracht und mit dem unter 2.6 beschriebenen Film überzogen (Abb. 4).

14 Tage blieb nun der Film in schwarzen slide-boxes der Strahlung des in die Nierenstücke eingebauten Tritiums ausgesetzt, um bei der geringen Strahlungsintensität, die von einem Schnitt ausgeht, eine ausreichende Schwärzung zu erzielen. Nach 14 Tagen Expositionszeit konnte der Film entwickelt werden.

Danach wurden die Schnitte zusammen mit dem darüberliegenden Film durch ein Deckglas abgedeckt, um eine Beschädigung zu verhindern. Die sich anschliessende Auswertung der Filme, die Feststellung von Ort und Ausmass der Schwärzung, erfolgte mit Hilfe des Mikroskopphotometers MPV der Firma E. LEITZ GmbH. Dabei wird die Silberkorndichte gemessen, wie es bereits unter 2.7 beschrieben worden ist.

Auf eine Eichung in dem Sinne, dass eine bestimmte Silberkorndichte einer ganz bestimmten Tritiummenge pro Schnitt entspricht, wurde bewusst verzichtet, da der Versuch nur Vergleiche mit sonst gleichbehandelten Nierenhälften von Tieren, die keiner Schadstoffbehandlung unterzogen worden waren, ermöglichen sollte.

Um diesen Vergleich anstellen zu können, wurde jeder Versuchsgruppe ein unbehandeltes Tier, das kein Blei injiziert bekommen hatte, als unbehandeltes Kontrolltier zugeordnet. Vom Augenblick der Narkotisierung der Tiere an wurden die Nieren der Kontrolltiere genauso behandelt, wie die Nieren der Versuchstiere; in jeder Inkubationslösung hingen also 5 + 1 Nierenhälften.

Weiterhin bestand die Möglichkeit, dass schon allein durch die sich im Gewebe befindenden Substanzen, z.B. Schwermetalle, Kalium usw., eine Schwärzung des Films hervorgerufen werden könnte. Um diese Frage zu klären, wurde eine weitere Versuchsreihe mit Blei durchgeführt.

Wieder wurden 5 Tieren drei verschiedene Dosen (180, 60, 20 mg Pb^{++}/kg KG) Bleiacetat s.c. injiziert. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie oben beschrieben, mit einer Ausnahme: Die Inkubationslösung enthielt nun kein H3-markiertes Leucin.

Wenn also unter diesen Bedingungen eine Schwärzung des Films auftreten würde, so müssten die strahlenden Atome sich im Nierenparenchym befunden haben und, gleiches Verhalten aller Präparate dieser Reihe vorausgesetzt, die Grösse dieser Schwärzung müsste als Background im vorhergehenden Versuch mit Blei berücksichtigt werden.

Um auch hier wieder einen Bezugswert zu erhalten, wurden in diesem Versuch ebenfalls 3 Vergleichstiere herangezogen, für jede Dosis eines. Sie bekamen keine Bleiacetat-Injektion, durchliefen aber sonst die gleichen Versuchsetappen.

Die Auswertung aller Proben (Film über Schnitt auf Objektträger) mit dem Mikroskopphotometer erfolgte in Schritten von 10 μ von der Nierenrinde zum Nierenmark hin. Die Grösse des Feldes, in dem jeweils die Silberkörner gezählt wurden, betrug 2 $\mu \cdot 20\ \mu = 40\ \mu^2$ (Abb. 5).

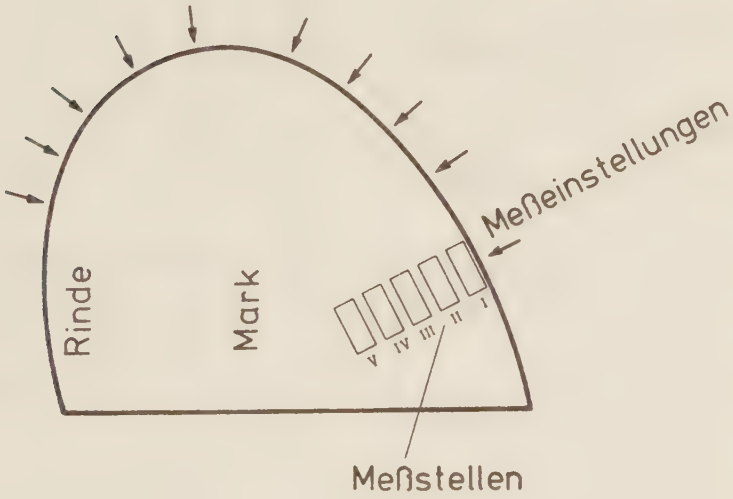

Abb. 5

Eine Eichkurve für die Beziehung Silberkornzahl: Impulse aus Sekundärelektronenvervielfacher wurde ermittelt. Sie hat jedoch keine praktische Bedeutung, da es nur auf den Vergleich der Proben untereinander ankommt und die Zahl der Impulse aus dem Photomultiplier in weiten Bereichen der Silberkorndichte proportional ist.

Zur besseren Übersicht sei hier noch eine Aufstellung über die Versuche gegeben:

Gruppe / Tier	Dosis	Krebs-Henseleit-Lsg mit H3-Leucin	Krebs-Henseleit-Lsg ohne H3-Leucin
1 / 1 - 5	180 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	+	-
1 / 6*	-	+	-
2 / 1 - 5	60 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	+	-
2 / 6*	-	+	-
3 / 1 - 5	20 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	+	-
3 / 6*	-	+	-
1a / 1 - 5	180 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	-	+
1a / 6	-	-	+
2a / 1 - 5	60 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	-	+
2a / 6	-	-	+
3a / 1 - 5	20 $\frac{mgPb^{++}}{kgKG}$	-	+
3a / 6	-	-	+

4.2 Cadmium

Das Vorgehen bei diesem Versuchsteil entspricht genau dem im oben beschriebenen Blei-Versuch. Injiziert wurde $CdCl_2$, und zwar in folgenden Dosen:

Gruppe/ Tier	Dosis	Krebs-Henseleit-Lsg mit H3-Leucin	Krebs-Henseleit-Lsg ohne H3-Leucin
4 / 1 - 5	5 $\frac{mgCd^{++}}{kgKG}$	+	-
4 / 6*	-	+	-
5 / 1 - 5	2,5 "	+	-
5 / 6*	-	+	-
6 / 1 - 5	1,25 "	+	-
6 / 6*	-	+	-
4a / 1 - 5	5 "	-	+
4a / 6	-	-	+
5a / 1 - 5	2,5 "	-	+
5a / 6	-	-	+
6a / 1 - 5	1,25 "	-	+
6a / 6	-	-	+

In dieser Aufstellung sind auch die Kontrolltiere aufgeführt, deren Untersuchung in Analogie zu den Überlegungen des Blei-Versuches erforderlich war.

Die Auswahl der Dosen erfolgte unter Berücksichtigung früher von HILSCHER am Medizinischen Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung in Düsseldorf durchgeführter Versuche, sowie der Arbeiten von KRAUSE-FABRICIUS / HILSCHER / 19 / und GABBIANI et al. [1]. Die LD_{50} für Ratten beträgt bei oraler Gabe 54 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht[2], was unter Zugrundelegung einer 7%igen Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt einer parenteral verabreichten Dosis von 3,78 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht entspricht.

Da die Werte für die Silberkorndichte im vorliegenden Versuch auffällig niedriger lagen, wurde ein weiterer Versuch angeschlossen (Cadmium-Nachversuch).

Noch einmal injizierten wir den Ratten dreier Versuchsgruppen Dosen von 5 mg, 2,5 mg und 1,25 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht s.c.. Jedoch wurden diesmal pro Versuchsgruppe nicht eine, sondern fünf Kontrollnieren herangezogen, die von unbehandelten Tieren stammten.

Während die Behandlung derjenigen Nierenhälften, die von "Cadmium-Ratten" stammten, wie oben beschrieben wiederholt wurde (Injektion, Inkubation in H3-markierter Leucin-Inkubationslösung, Aufbereitung für die Autoradiographie), verwendeten wir von den Kontrolltieren den oberen und den unteren Nierenpol für das weitere Vorgehen. Es war nämlich der Verdacht aufgekommen, dass möglicherweise die Leucin-Einbaufähigkeit der unbehandelten Kontrollnierenhälften durch die Anwesenheit der mit Schwermetallionen behandelten Nieren beeinträchtigt würde; schliesslich hingen sie im ersten Cadmium-Versuch 1 Stunde in einer gemeinsamen Inkubationslösung!

---

[1] GABBIANI, G. et al.: Studies on tolerance and ionic antagonism for cadmium or mercury. In: Can. J. Physiol. Pharmacol. 45, 443 (1967)

[2] LUCKEY, T.D. et al.: Heavy Metal Toxicity, Safety and Hormology. - Stuttgart: Georg Thieme Publishers 1975

Aus diesem Grunde wurde mit den cranialen Nierenpolen der Kontrolltiere so verfahren, wie auch schon im Blei-Versuch bzw. ersten Cadmium-Versuch. Sie wurden zusammen mit den "Cadmiumnieren" in die Inkubationslösung gebracht. Der untere Nierenpol wurde jedoch in eine Inkubationslösung gebracht, die keine mit Cadmium behandelten Nieren enthielt. Nachfolgend eine Übersicht über den Cadmium-Nachversuch:

Gruppe/ Tier	Dosis	KHL mit H3-Leucin	
7 /1 - 5	5 $\frac{mg\ Cd^{++}}{kg\ KG}$	+	
7 /6*- 10*	-	+	cranialer Pol
7 /6*- 10*	-	+	caudaler Pol
8 /1 - 5	2,5 $\frac{mg\ Cd^{++}}{kg\ KG}$	+	
8 /6*- 10*	-	+	cranialer Pol
8 /6*- 10*	-	+	caudaler Pol
9 /1 - 5	1,25 $\frac{mg Cd^{++}}{kg\ KG}$	+	
9 /6*- 10*	-	+	cranialer Pol
9 /6*- 10*	-	+	caudaler Pol

4.3 Kohlenoxid (CO)

Es wurden zwei Versuche mit Kohlenoxid durchgeführt: ein "Kurzzeitversuch" mit zweistündiger Beatmung, bei dem höhere Dosen zur Anwendung kamen und ein "Langzeitversuch" mit 24-stündiger Beatmung, bei dem niedrigere Dosen verabfolgt wurden.

4.3.1 CO - "Kurzzeit"-Versuch

Die LD_{50} (bei zweistündiger Exposition) beträgt für gesunde, 180 g schwere Albinoratten 4678 ppm (parts per million) CO /10/. Wir wählten für unsere Beatmungsversuche, die sich über zwei Stunden erstreckten, Dosen von 3000 ppm, 2000 ppm und 1000 ppm, entsprechend 3 l CO/m^3, 1 l CO/m^3 und 1 l CO/m^3.

In die bis auf zu- und abführende Schlauchverbindungen dicht verschliessbare Versuchskammer wurden je Dosis 5 Tiere (in ihrem Käfig) eingebracht. Abb. 6 zeigt schematisch den Versuchsaufbau. Sie atmeten dort ein Luft - Kohlenoxid - Gemisch, dessen Zusammensetzung jederzeit über das Ultrarotabsorptionsspektrometer (URAS) und den damit gekoppelten Schreiber kontrolliert wurde. Die genauere Beschreibung der CO-Konzentrationsmessung ist unter 2.9 gegeben.

In einer Mischpipette (Mischkammer) wurde CO, das aus einer Druckgasflasche strömte, mit durch einen Kompressor angesaugter Luft vermischt. Das Gasgemisch strömte sodann in die Versuchskammer, in der sich die Tiere der drei Versuchsgruppen (10, 11 und 12) jeweils zwei Stunden lang befanden. Da die einströmende CO-Menge von Hand mittels Druckminderventil geregelt werden musste, war vor dem Einbringen eines Käfigs mit Ratten

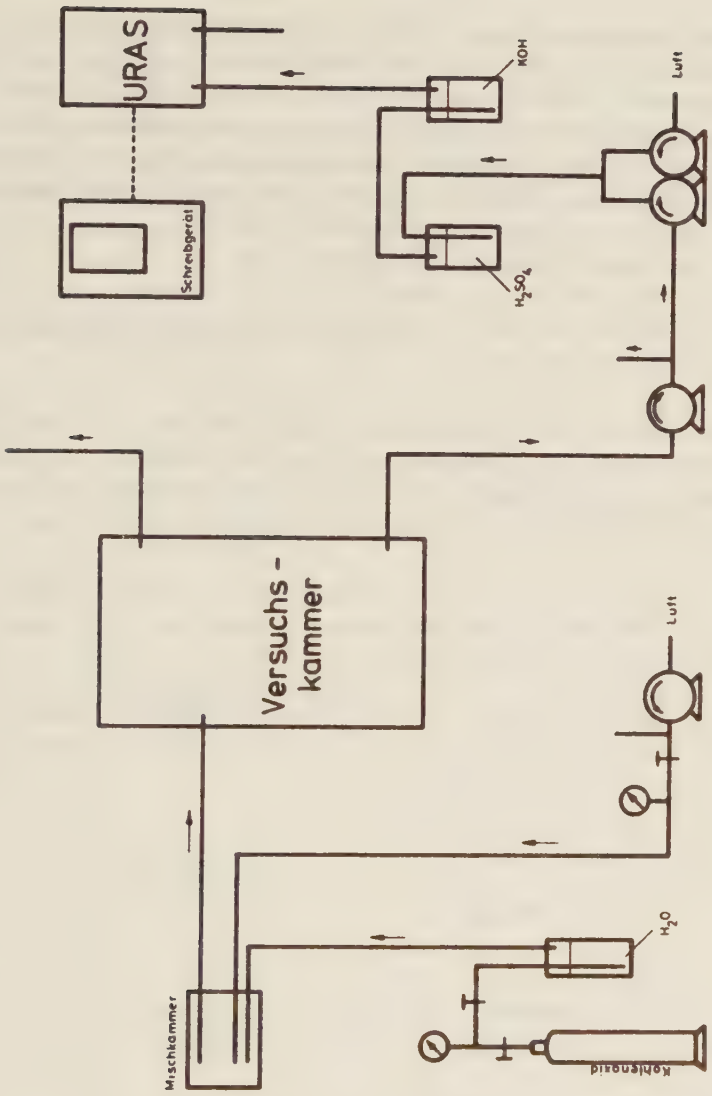
URAS
Schreibgerät
KOH
H_2SO_4
Luft
Versuchs-
kammer
Luft
H_2O
Kohlenoxid
Mischkammer

Abb. 6

die Luftzusammensetzung einzustellen. Durch kontinuierliche Abnahme von Gasproben aus der Versuchskammer wurde mittels URAS der CO-Anteil bestimmt und so lange die CO-Zufuhr von Hand nachgeregelt, bis sich der gewünschte Wert (3000 ppm, 2000 ppm, 1000 ppm) eingestellt hatte. Dann wurden die Tiere eingeschleust, was zu einem geringfügigen Absinken des CO-Anteils in der Atemluft führte. Nach erneutem Einpendeln der CO-Konzentration begann die Expositionszeit von zwei Stunden.

Nach zweistündiger Beatmung folgte die nächste Versuchsgruppe mit der zweiten Dosis u.s.w..

Die beatmeten Tiere verweilten danach 24 Stunden in ihren Käfigen (analog zu den Versuchen mit Blei und Cadmium), ehe sie dem weiteren Versuchsablauf unterzogen wurden. Der Fortgang des Versuches ist im Blei-Versuch ab Seite 32 genau beschrieben.

Auch der Vergleich mit Nieren unbehandelter Tiere und der Leerversuch (KHL ohne H3-Leucin) wurde durchgeführt. Die folgende Aufstellung gibt eine Übersicht über diesen Versuch:

Gruppe/ Tier	Dosis	Krebs-Henseleit-Lsg mit H3-Leucin	Krebs-Henseleit-Lsg ohne H3-Leucin
10 /1 - 5	3000 ppm	+	-
10 / 6*	-	+	-
10a / 7	+	-	+
11 /1 - 5	2000 ppm	+	-
11 / 6*	-	+	-
11a / 7	+	-	+
12 /1 - 5	1000 ppm	+	-
12 / 6*	-	+	-
12a / 7	+	-	+

4.3.2 CO-"Langzeit"-Versuch

Dieser Teil des CO-Versuches unterscheidet sich vom eben beschriebenen dadurch, dass die Dosen niedriger sind, die Expositionszeit jedoch länger ist.

Gruppe/ Tier	Dosis	Krebs-Henseleit-Lsg mit H3-Leucin	Krebs-Henseleit-Lsg ohne H3-Leucin
13 /1 - 5	800 ppm	+	-
13 / 6*	-	+	-
13a / 7	+	-	+
14 /1 - 5	400 ppm	+	-
14 / 6*	-	+	-
14a / 7	+	-	+
15 /1 - 5	200 ppm	+	-
15 / 6*	-	+	-
15a / 7	+	-	+
16 /1 - 5	100 ppm	+	-
16 / 6*	-	+	-
16a / 7	+	-	+
17 /1 - 5	50 ppm	+	-
17 / 6*	-	+	-
17a / 7	+	-	+

Die Dosen können der tabellarischen Aufstellung entnommen werden; die Beatmung erfolgte über 24 Stunden. Während dieser Zeit befanden sich die Tiere wie im Kurzzeitversuch in ihrem Käfig, versehen mit ihrer gewohnten Nahrung.

Zu jeder Versuchsgruppe wurde ein unbehandeltes Tier als Kontrolltier gegeben. Um festzustellen, ob Schnitte unbehandelter Nieren, die nicht in H3-haltiger Inkubationslösung wären, eine Schwärzung des Films hervorrufen würden, wurde jeder Gruppe ein weiteres Tier hinzugefügt.

(Versuchsdurchführung siehe 4.3.1 bzw. 4.1)

4.4 Tod

In diesem letzten Versuchsabschnitt sollte untersucht werden, ob eine unterschiedlich lange Verweildauer der Nieren in einem getöteten Tier den Proteinstoffwechsel fassbar beeinträchtigt.

15 Tiere wurden zu diesem Zweck in 3 Gruppen à 5 Tiere eingeteilt. Die Tiere der ersten Gruppe (18) wurden 60 Minuten, die in der zweiten (19) 30 Minuten, die der dritten (20) 15 Minuten nach der Tötung durch Äthernarkose bei Zimmertemperatur (20° C) aufbewahrt.

Das weitere Vorgehen bei der Versuchsdurchführung - Inkubation, Autoradiographie etc. - ist unter 4.1 geschildert. Wie auch bei den vorausgegangenen Versuchen wurde den Nierenhälften der fünf Versuchstiere die Nierenhälfte eines Kontrolltiers hinzugefügt. Diesem Tier wurde die Niere in tiefer Äthernarkose entnommen.

Die nachfolgende Übersicht zeigt die Versuchsgruppen und ihre Behandlung:

Gruppe/ Tier	Zeit	Krebs-Henseleit-Lsg mit H3-Leucin	Krebs-Henseleit-Lsg ohne H3-Leucin
18 /1 - 5	60 '	+	-
18 / 6*	-	+	-
19 /1 - 5	30 '	+	-
19 / 6*	-	+	-
20 /1 - 5	15 '	+	-
20 / 6*	-	+	-

5 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Auswertungen sind in den Tabellen 1 - 8 eingetragen sowie in den Figuren 1 A - 20 A und 1 B - 20 B in Form von Säulen graphisch dargestellt.

Die Tabellen sind so gegliedert, dass sich in der ersten Spalte die Angabe der Noxe, ihre Dosis bzw. die Zeit ihrer Einwirkung befindet. In der zweiten Spalte sind die einzelnen Versuchstiere angegeben. Dabei handelt es sich jeweils bei den Tieren 1 - 5 um diejenigen Tiere, die behandelt worden sind und bei den mit * bezeichneten Tieren um die unbehandelten Kontrolltiere.

In den darauffolgenden fünf Spalten, die mit den Ziffern I - V überschrieben wurden, sind die einzelnen Messwerte jedes Tieres angegeben. Die Ziffern I - V entsprechen den fünf Messstellenbereichen vom Nierenrand in Richtung Nierenmark (s.S. 37), die Messwerte geben die Zahl der Impulse aus dem Photomultiplier pro ausgezählter Fläche an (s.S. 11). In jeder Spalte sind die Mittelwerte von zehn Messungen angegeben, die an der Niere in einer bestimmten Tiefe vom Nierenrand aus gemacht wurden. Zwischen den "Versuchstieren" und dem jeweiligen "Kontrolltier" sind zwei Zeilen eingefügt, die das geometrische Mittel GM über die Messwerte der fünf "Versuchstiere" und seinen Vertrauensbereich VB enthalten.

In den Figuren entspricht die Höhe der Säule der Anzahl registrierter Impulse/Fläche; sie steht also in Relation zur Silberkornzahl/Fläche bzw. zur Silberkorndichte. Ausgewertet wurden jeweils 10 Areale zu 40 μm^2. Die gepunkteten Säulen geben die Einzelwerte der "Kontrollnieren" in den Figuren 1 A - 20 A wieder, die schraffierten Säulen die Mittelwerte sämtlicher Kontrollnieren in den Figuren 1 B - 20 B. Die leeren Säulen

entsprechen den Mittelwerten der Versuchsnieren. Ferner sind die Vertrauensbereiche der Mittelwerte angegeben.

In jeder Figur geben die Säulen der Messstelle I die Impulszahl/Fläche in den unmittelbar an den Rindenrand grenzenden 10 Arealen wieder, die Säulen der Messstelle II die in den 12 - 14 µm vom Rindenrand entfernten Arealen, die Säulen der Messstelle III die in den 24 - 26 µm vom Rindenrand entfernten Arealen, die Säulen der Messstelle IV die in den 36 - 38 µm vom Rindenrand entfernten Arealen und die Säulen der Messstelle V die in den 48 - 50 µm vom Rindenrand entfernten Arealen.

Die Kontrollwerte zu den gewonnenen Mittelwerten der Versuchsgruppe 1 - 20 in den Figuren 1 A - 20 A beziehen sich nur auf die Nierenhälfte des zugehörigen Kontrolltiers, die mit den fünf Nierenhälften der jeweiligen Versuchsgruppe gemeinsam inkubiert worden war.

Die Kontrollwerte in den Figuren 1 B - 20 B wurden aus den Einzelwerten von insgesamt 47 Nierenhälften gebildet. Es handelt sich hierbei um den Mittelwert bezogen auf alle Kontrolltiere der Gruppen 1 - 20, die in der vorliegenden Arbeit als Kontrolltierkollektiv zusammengefasst werden.

5.1 Blei

Nach Gabe von 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde gegenüber der Norm generell nicht herabgesetzt oder gesteigert (Fig. 1 A, 1 B).

Das galt im wesentlichen auch für die Versuchstiere der Gruppe, die 60 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht erhalten hatten (Fig. 2 A, 2 B). Bei Berücksichtigung des Kontrolltierkollektivs lag jedoch der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich I und II signifikant höher (Fig. 2 B).

Nach Gabe von 20 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere signifikant höher als bei den Kontrolltieren (Fig. 3 A, 3 B). Davon wich nur der Messstellenbereich IV (Fig. 3 B) ab, bei dem sich die Vertrauensbereiche der Mittelwerte von Versuchstieren und dem Kontrolltierkollektiv minimal überlagerten.

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
180 mg Pb^{++}/kg KG	1		29,3	18,1	8,3	4,5	1,6
	2		21,4	14,0	6,3	3,4	1,3
	3		---	---	---	---	---
	4		22,6	14,0	6,8	4,0	1,5
	5		18,6	11,1	6,2	4,0	1,7
		GM	22,7	14,1	6,9	3,9	1,5
		VB	12,8 - 40,0	7,8 - 25,6	4,6 - 10,2	2,8 - 5,6	1,1 - 2,1
	6*		16,4	9,6	4,0	3,1	1,6
60 mg Pb^{++}/kg KG	1		31,4	19,2	9,2	2,5	0,4
	2		35,1	23,2	6,9	9,8	0,8
	3		34,4	22,1	5,1	12,2	0,6
	4		36,9	22,9	6,8	2,1	0,7
	5		35,8	23,4	7,3	2,6	0,5
		GM	34,7	22,1	6,9	4,4	0,6
		VB	32,1 - 37,4	20,0 - 24,5	5,3 - 9,0	1,5 - 12,5	0,4 - 0,8
	6*		34,6	24,1	13,7	8,6	3,6
20 mg Pb^{++}/kg KG	1		35,3	30,0	20,9	14,0	7,5
	2		34,4	28,1	21,3	13,3	6,6
	3		34,0	27,9	19,0	8,2	5,3
	4		---	---	---	---	---
	5		33,6	28,1	17,4	6,6	3,1
		GM	34,3	28,5	19,6	10,0	5,3
		VB	33,2 - 35,5	27,0 - 30,1	16,9 - 22,7	5,6 - 18,0	2,9 - 9,9
	6*		26,5	19,7	9,8	3,4	0,9

Tabelle 1: Blei-Versuch

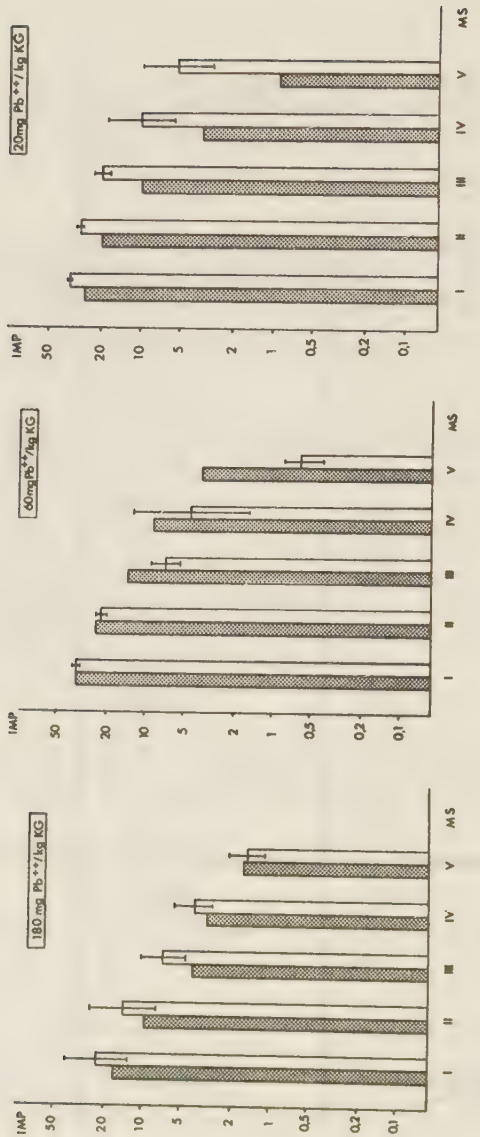

Fig. 1 A

Fig. 2 A

Fig. 3 A

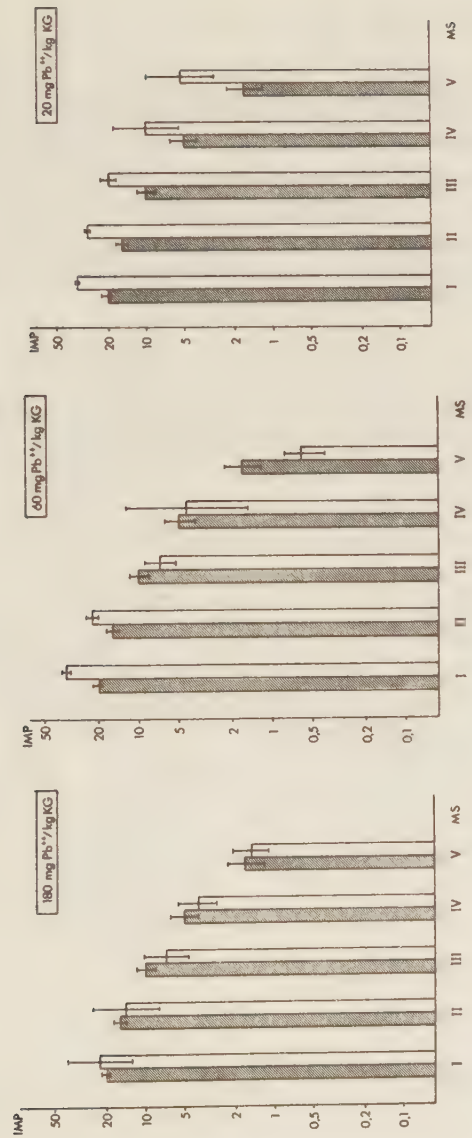

Fig. 1 B

Fig. 2 B

Fig. 3 B

5.2 Cadmium

Nach Gabe von 5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht lag der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere signifikant höher als der Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers (Fig. 4 A). Bei einem Vergleich zwischen dem Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere und dem Kontrolltierkollektiv ergab sich hingegen kein signifikanter Unterschied zwischen Versuchstieren und Kontrolltieren (Fig. 4 B).

Nach Gabe von 2,5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde bei dem zugehörigen Kontrolltier im Messstellenbereich III - V signifikant höher als bei den Versuchstieren (Fig. 5 A). Bei dem Vergleich zwischen den Versuchstieren und dem Kontrolltierkollektiv lagen die Mittelwerte der Versuchstiere signifikant niedriger (Fig. 5 B).

Nach Gabe einer Dosis von 1,25 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht lag der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde bei den Versuchstieren generell signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren (Fig. 6 A, 6 B). Nur im Messstellenbereich IV und V (Fig. 6 A) war der Unterschied nicht signifikant.

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
5,0 mg Cd^{++} / kg KG	1		19,7	22,3	13,1	3,9	0,8
	2		22,0	23,1	17,9	7,6	1,2
	3		16,0	18,3	8,6	2,9	0,9
	4		16,8	14,3	11,2	6,1	0,9
	5		16,8	19,6	14,4	7,3	2,3
		GM	18,1	19,2	12,7	5,2	1,1
		VB	15,3 - 21,4	15,2 - 24,4	9,0 - 17,8	3,1 - 8,8	0,7 - 1,9
—	6*		6,7	4,4	1,0	0,3	0,1
2,5 mg Cd^{++} / kg KG	1		13,6	11,7	4,1	0,5	0,3
	2		6,9	7,4	3,8	1,1	0,3
	3		12,0	9,4	4,8	1,8	0,7
	4		11,1	8,8	4,3	0,5	0,1
	5		6,2	4,5	3,5	1,7	0,4
		GM	9,5	8,0	4,1	1,0	0,3
		VB	6,1 - 14,7	5,1 - 12,5	3,5 - 4,7	0,4 - 2,1	0,1 - 0,7
—	6*		11,6	6,8	1,6	0,2	0,1
1,25 mg Cd^{++} / kg KG	1		4,3	2,7	1,2	0,2	0,1
	2		3,5	3,5	1,7	0,6	0,3
	3		2,9	2,2	1,8	1,4	0,5
	4		6,9	3,8	1,9	0,9	0,4
	5		7,6	4,1	1,8	0,4	0,0
		GM	4,7	3,2	1,7	0,6	0,2
		VB	2,8 - 8,0	2,3 - 4,4	1,3 - 2,1	0,2 - 1,4	0,1 - 0,6
—	6*		7,6	6,4	3,3	0,8	0,2

Tabelle 2: Cadmium-Versuch

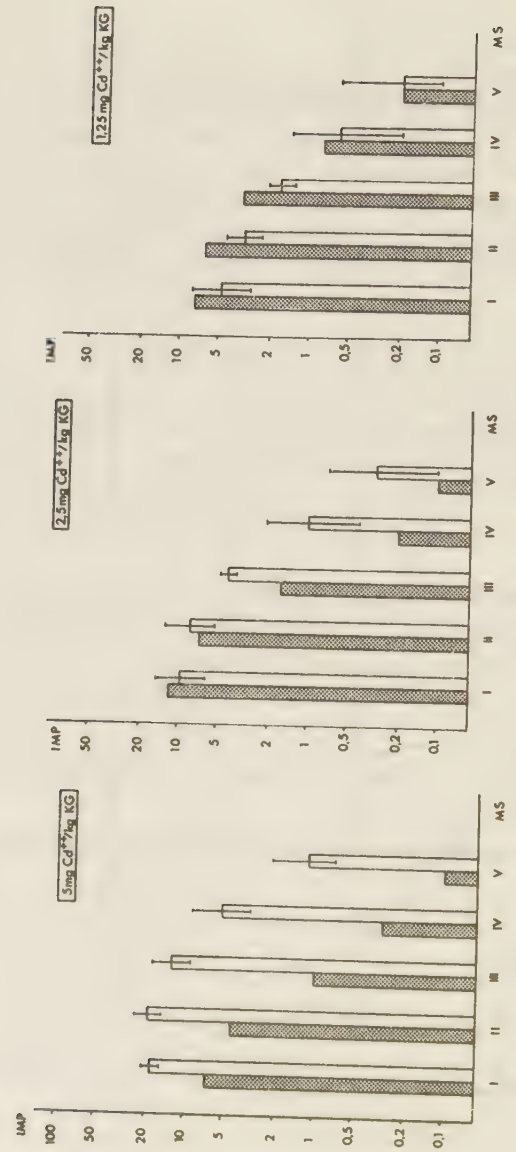

Fig. 4 A

Fig. 5 A

Fig. 6 A

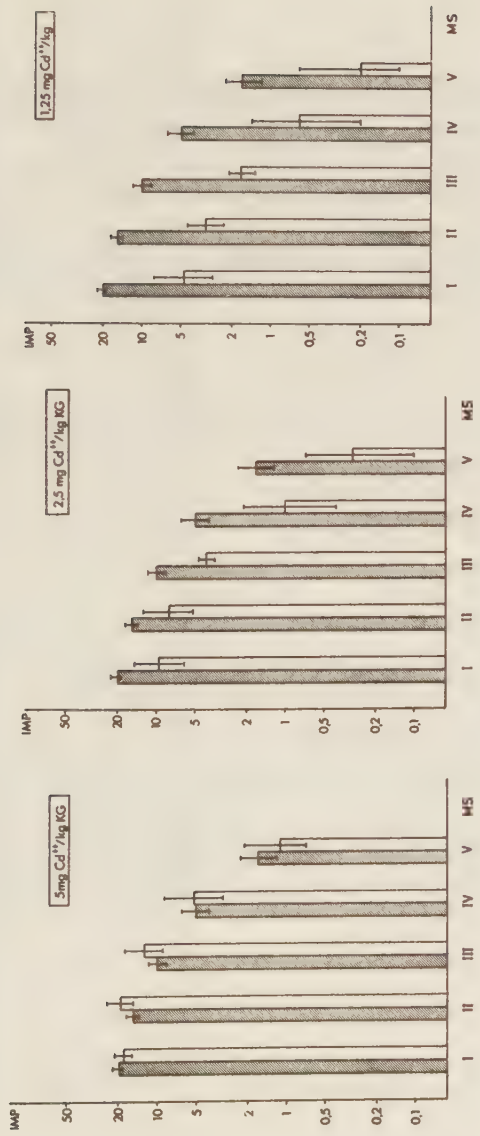

Fig. 4 B

Fig. 5 B

Fig. 6 B

Cadmium-Nachversuch

Nach einer Gabe von 5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich IV und V signifikant kleiner und im Messstellenbereich I signifikant grösser als der Einbau in die zugehörigen Nieren der fünf Kontrolltiere (Fig. 7 A). Unter Berücksichtigung der Nieren des Kontrolltierkollektivs war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich IV und V signifikant kleiner (Fig. 7 B).

Nach einer Gabe von 2,5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich V signifikant kleiner als der Einbau in die Nieren der entsprechenden fünf Kontrolltiere (Fig. 8 A). Bei Berücksichtigung des Kontrolltierkollektivs war kein signifikanter Unterschied bei dieser Dosis festzustellen (Fig. 8 B).

Nach einer Gabe von 1,25 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere und dem Einbau in die Nierenrinde der Kontrolltiere (Fig. 9 A, 9 B).

Die separat inkubierten 2. Nierenhälften der Kontrolltiere (siehe S.40) unterschieden sich nicht signifikant im Einbau von H3-Leucin in die Rinde der Nierenhälften der Kontrolltiere, die mit Cadmiumnieren zusammen in H3-Leucin-Lösung inkubiert worden waren.

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
5 mg Cd^{++} / kg KG	1		16,6	13,5	9,4	3,2	0,8
	2		20,0	17,1	9,8	3,9	1,2
	3		15,7	12,2	6,1	1,3	0,3
	4		20,8	9,4	1,3	0,9	0,4
	5		18,7	15,3	5,5	1,4	0,3
		GM	18,2	13,2	5,2	2,0	0,5
		VB	15,6 - 21,1	9,9 - 17,5	1,9 - 14,6	0,8 - 3,9	0,2 - 1,1
2,5 mg Cd^{++} / kg KG	1		21,4	17,0	11,0	7,4	1,1
	2		18,3	16,1	10,9	3,2	1,1
	3		11,3	9,7	7,1	5,6	2,3
	4		21,2	19,2	13,4	7,3	2,2
	5		21,5	20,0	14,6	7,0	2,1
		GM	18,2	15,0	11,0	5,8	1,7
		VB	12,9 - 25,5	11,0 - 22,6	7,8 - 15,6	3,7 - 9,0	1,0 - 2,7
1,25 mg Cd^{++} / kg KG	1		9,7	8,2	6,1	0,3	1,9
	2		10,2	9,5	7,0	0,7	0,6
	3		23,4	20,2	17,5	11,5	4,9
	4		26,8	22,8	17,7	6,6	1,6
	5		10,1	7,8	6,2	3,9	2,2
		GM	14,3	12,2	9,6	2,3	1,8
		VB	7,7 - 26,8	6,4 - 23,3	4,8 - 19,1	0,3 - 15,5	0,7 - 4,6

Tabelle 3: Cadmium-Nachversuch

Dosis	Tier		Meßteile I	II	III	IV	V
	6*		13,7	12,1	8,2	7,0	2,1
	7*		15,6	15,2	10,3	7,7	3,0
	8*		15,1	13,9	11,0	6,6	2,9
	9*		19,2	16,0	12,1	8,2	3,8
	10*		16,0	15,4	10,7	7,9	3,2
		GM	15,8	14,4	10,3	7,4	2,9
		VB	13,6 - 18,4	12,6 - 16,4	8,6 - 12,3	6,6 - 8,3	2,2 - 3,8
	6*		17,2	16,4	12,4	6,5	3,4
	7*		18,1	17,5	12,2	7,9	3,0
	8*		18,5	16,9	13,1	8,2	2,8
	9*		19,4	17,3	13,9	9,6	3,3
	10*		19,1	16,0	14,9	8,6	1,8
		GM	18,4	16,8	13,2	8,1	2,8
		VB	17,5 - 19,5	16,0 - 17,5	11,9 - 14,6	6,8 - 9,6	2,0 - 3,8
	6*		18,0	15,0	10,2	3,9	1,6
	7*		24,0	20,2	17,4	7,8	2,5
	8*		25,8	21,5	13,5	5,4	1,0
	9*		21,8	19,0	13,7	10,9	3,9
	10*		21,8	16,3	14,5	10,2	3,8
		GM	22,0	18,2	13,6	7,1	2,2
		VB	18,5 - 26,0	15,0 - 21,8	10,7 - 17,3	4,1 - 12,1	1,1 - 4,7

Tabelle 4: Cadmium-Nachversuch, Kontrolltiere cranialer Pol

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
-	6*		17,4	9,9	9,1	3,2	1,1
-	7*		18,7	11,9	8,7	7,5	5,9
-	8*		14,7	10,0	12,7	9,7	6,5
-	9*		15,5	10,7	7,2	6,8	6,1
-	10*		17,6	10,6	9,5	5,4	2,8
		GM	16,6	10,6	9,2	6,1	3,7
		VB	14,7 - 18,7	9,6 - 11,6	7,2 - 11,9	3,6 - 10,3	1,4 - 9,6
-	6*		19,5	18,2	14,1	6,9	2,6
-	7*		26,5	15,5	11,0	5,6	3,6
-	8*		20,7	15,0	11,8	5,8	2,2
-	9*		20,2	18,6	10,9	4,1	2,2
-	10*		19,6	18,3	13,7	7,8	2,2
		GM	21,1	17,0	12,2	5,9	2,5
		VB	18,0 - 24,8	14,9 - 19,3	10,5 - 14,2	4,3 - 7,9	1,9 - 3,3
-	6*		27,1	25,0	19,1	14,2	6,6
-	7*		20,7	16,9	11,1	5,3	2,8
-	8*		20,9	16,6	15,3	10,4	3,8
-	9*		21,6	17,3	13,2	8,0	2,9
-	10*		23,1	14,4	5,3	3,5	3,0
		GM	22,4	17,6	11,7	7,3	3,6
		VB	19,5 - 25,8	13,6 - 22,6	6,4 - 20,1	3,7 - 14,6	2,3 - 5,6

Tabelle 5: Cadmium-Nachversuch, Kontrolltiere caudaler Pol

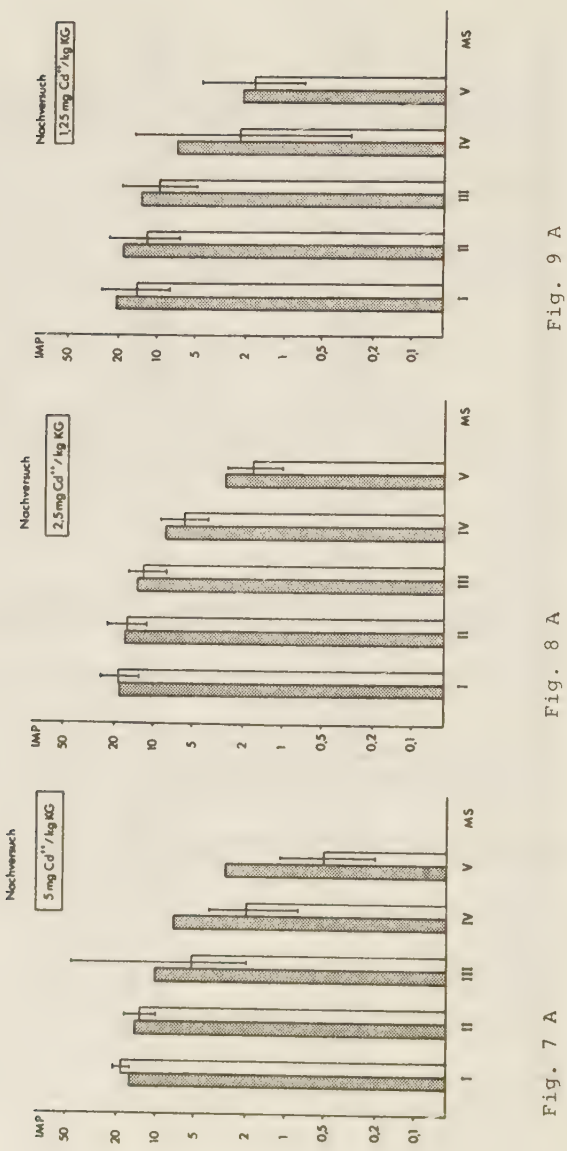

Fig. 7 A

Fig. 8 A

Fig. 9 A

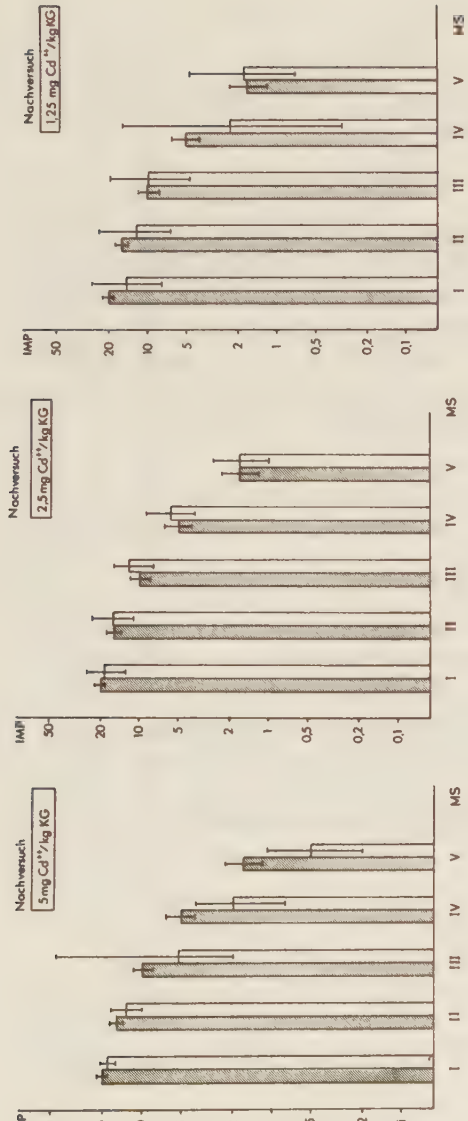

Fig. 7 B

Fig. 8 B

Fig. 9 B

5.3 Kohlenoxid

5.3.1 "Kurzzeit"-Versuch

Nach einer 2-stündigen Beatmung mit 3000 ppm CO ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere und dem Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers (Fig. 10 A). Unter Berücksichtigung der Nieren des Kontrolltierkollektivs war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich I und II signifikant höher (Fig. 10 B).

Das gleiche Ergebnis zeigte der Versuch, bei dem die Ratten 2 Stunden lang mit 2000 ppm CO beatmet worden waren (Fig. 11 A, 11 B).

Nach einer 2-stündigen Beatmung mit 1000 ppm CO (Fig. 12 A, 12 B) war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich I, II und V (Fig. 12 A) bezogen auf die Niere des zugehörigen Kontrolltiers signifikant grösser. Im Vergleich zum Kontrolltierkollektiv lag der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere bei den Messstellen I, II und III (Fig. 12 B) ebenfalls signifikant höher.

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
3000 ppm CO	1		50,0	42,0	30,8	16,1	5,3
	2		30,0	19,7	8,4	3,9	1,5
	3		43,1	32,9	11,9	4,0	0,7
	4		29,3	22,5	11,2	2,7	0,2
	5		31,2	20,9	6,2	1,2	0,5
		GM	35,8	26,4	11,6	3,8	0,9
		VB	26,5 - 48,5	17,5 - 39,7	5,5 - 24,6	1,2 - 12,2	0,2 - 4,1
	6*		27,1	21,4	12,1	7,0	1,6
2000 ppm CO	1		27,4	20,1	3,4	1,0	0,4
	2		43,8	40,3	28,6	14,0	3,0
	3		33,6	25,6	14,2	2,6	1,1
	4		30,3	18,8	3,9	0,9	0,3
	5		38,4	29,0	17,0	4,4	0,6
		GM	34,2	25,7	9,8	2,7	0,8
		VB	27,1 - 43,1	17,6 - 37,7	3,0 - 31,7	0,7 - 11,1	0,2 - 2,3
	6*		28,0	17,4	6,7	1,9	1,3
1000 ppm CO	1		35,5	33,6	27,9	16,2	3,9
	2		38,1	29,2	10,5	0,8	0,2
	3		41,5	33,8	31,5	3,5	0,9
	4		35,3	27,3	14,8	2,5	0,2
	5		37,0	26,6	19,2	5,9	1,8
		GM	37,4	29,9	19,2	3,7	0,8
		VB	34,5 - 40,6	26,0 - 34,5	11,0 - 33,7	0,9 - 14,5	0,2 - 3,9
	6*		29,4	24,6	11,5	2,3	0,1

Tabelle 6: Kohlenoxid "Kurzzeit"-Versuch

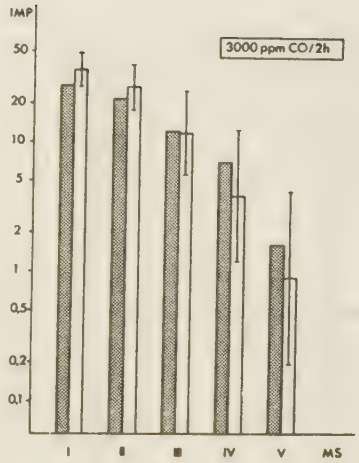

Fig. 10 A

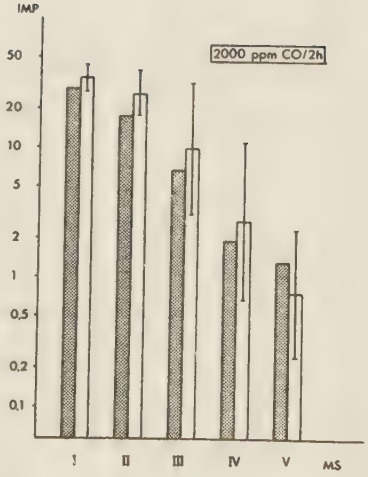

Fig. 11 A

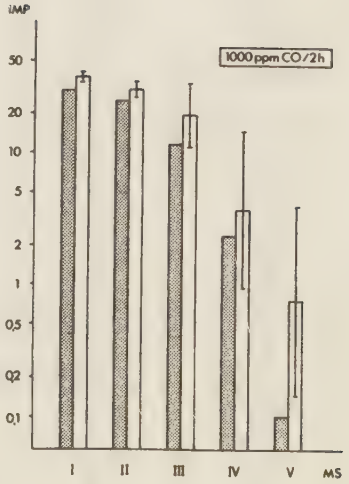

Fig. 12 A

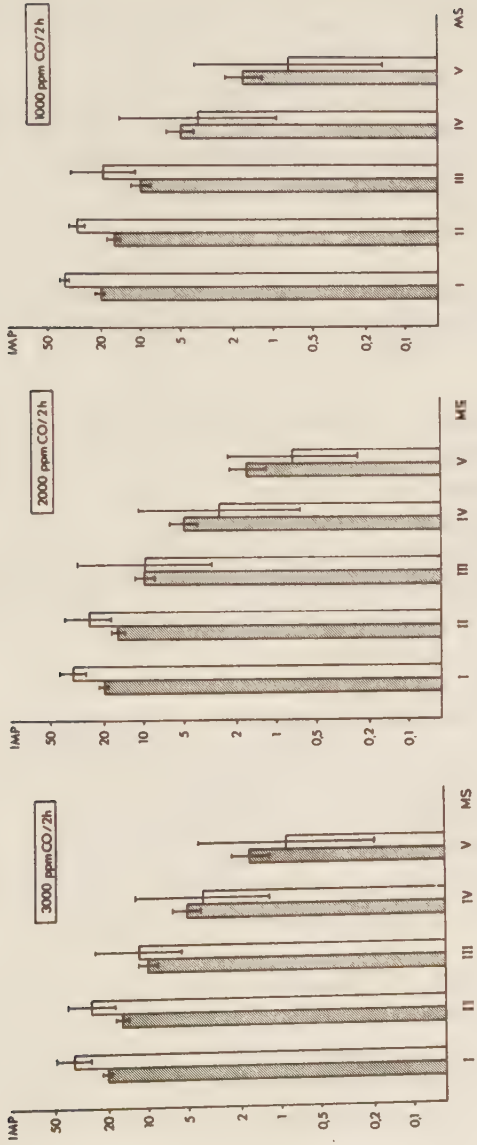

Fig. 10 B

Fig. 11 B

Fig. 12 B

5.3.2 "Langzeit"-Versuch

Der Versuch, bei dem die Ratten 24 Stunden mit 800 ppm CO beatmet worden waren, zeigte keinen statistisch gesicherten Unterschied im Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde zwischen Versuchstieren, zugehörigem Kontrolltier und Kontrollkollektiv (Fig. 13 A, 13 B).

Das gleiche Ergebnis zeigte der Versuch, bei dem die Ratten einer 24-stündigen Beatmung von 400 ppm CO ausgesetzt worden waren (Fig. 14 A, 14 B).

Auch der Versuch, bei dem die Ratten 24 Stunden mit 200 ppm CO beatmet worden waren, zeigte einen nicht signifikanten Unterschied zwischen dem Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde beatmeter und unbehandelter Ratten (Fig. 15 A, 15 B). Eine Abweichung von diesem Ergebnis zeigte der Messstellenbereich I (Fig. 15 B), bei dem sich ein signifikant grösserer Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Vergleich zum Kontrolltierkollektiv fand.

Nach einer 24-stündigen Beatmung mit 100 ppm CO ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere und dem Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers (Fig. 16 A). Unter Berücksichtigung der Nieren des Kontrolltierkollektivs war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich I und II (Fig. 16 B) ebenfalls signifikant höher.

Der Versuch, bei dem die Ratten 24 Stunden mit 50 ppm CO beatmet worden waren (Fig. 17 A, 17 B), zeigte, dass der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Vergleich zu der Niere des zugehörigen Kontrolltiers im Messstellenbereich I und V (Fig. 17 A) signifikant grösser war. Verglichen mit dem

Kontrolltierkollektiv war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich I und II (Fig. 17 B) signifikant grösser.

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
800 ppm CO	1		34,0	30,7	22,0	13,2	5,4
	2		19,9	14,8	4,2	0,7	0,2
	3		28,9	26,2	10,3	1,2	0,2
	4		24,5	20,7	6,7	0,9	0,7
	5		12,6	10,7	6,4	1,1	0,6
		GM	22,7	19,2	8,4	1,6	0,6
		VB	14,1 - 36,6	11,3 - 32,8	3,8 - 18,2	0,4 - 7,1	0,1 - 3,3
	6*		31,7	24,2	9,6	3,5	0,9
400 ppm CO	1		15,8	12,7	4,3	1,6	0,7
	2		30,3	29,1	11,4	2,3	0,5
	3		26,4	22,9	16,8	9,8	4,0
	4		29,1	25,7	11,5	5,3	0,4
	5		25,7	19,7	4,4	0,4	0,1
		GM	24,8	21,2	8,4	2,4	0,6
		VB	17,9 - 34,4	14,2 - 31,6	3,9 - 18,2	0,5 - 10,9	0,1 - 2,9
	6*		26,7	20,7	10,8	3,7	0,6
200 ppm CO	1		24,8	14,5	2,9	0,4	0,1
	2		30,9	19,5	5,9	3,0	1,7
	3		33,6	26,5	13,8	6,2	2,0
	4		37,4	33,3	24,0	13,3	6,9
	5		31,5	27,7	14,5	2,8	0,2
		GM	31,4	23,3	9,6	3,1	0,9
		VB	26,0 - 37,8	15,5 - 35,1	3,4 - 27,3	0,6 - 15,6	0,1 - 7,6
	6*		27,0	20,8	11,1	4,7	1,2

Tabelle 7: Kohlenoxid "Langzeit"-Versuch

Dosis	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
100 ppm CO	1		---	---	---	---	---
	2		35,3	26,2	13,3	1,8	0,1
	3		35,5	22,5	8,2	1,6	1,7
	4		38,4	35,5	13,6	1,1	0,2
	5		35,7	31,4	16,6	5,0	2,6
		GM	36,1	28,4	12,5	2,0	0,5
		VB	34,0 - 38,6	20,7 - 39,1	7,8 - 20,1	0,7 - 5,6	0,0 - 6,8
	6*		35,5	30,1	13,7	6,1	0,7
50 ppm CO	1		30,8	21,6	6,9	2,6	1,1
	2		28,6	20,4	9,8	3,3	0,6
	3		33,0	25,0	15,6	2,3	0,4
	4		33,8	27,7	10,4	2,9	0,5
	5		33,1	25,2	15,7	2,5	0,5
		GM	32,8	25,7	13,3	3,0	0,7
		VB	29,6 - 36,3	21,1 - 31,3	9,7 - 18,2	2,1 - 4,5	0,3 - 1,8
	6*		29,4	24,6	11,6	2,4	0,1

Tabelle 7 (Fortsetzung): Kohlenoxid "Langzeit"-Versuch

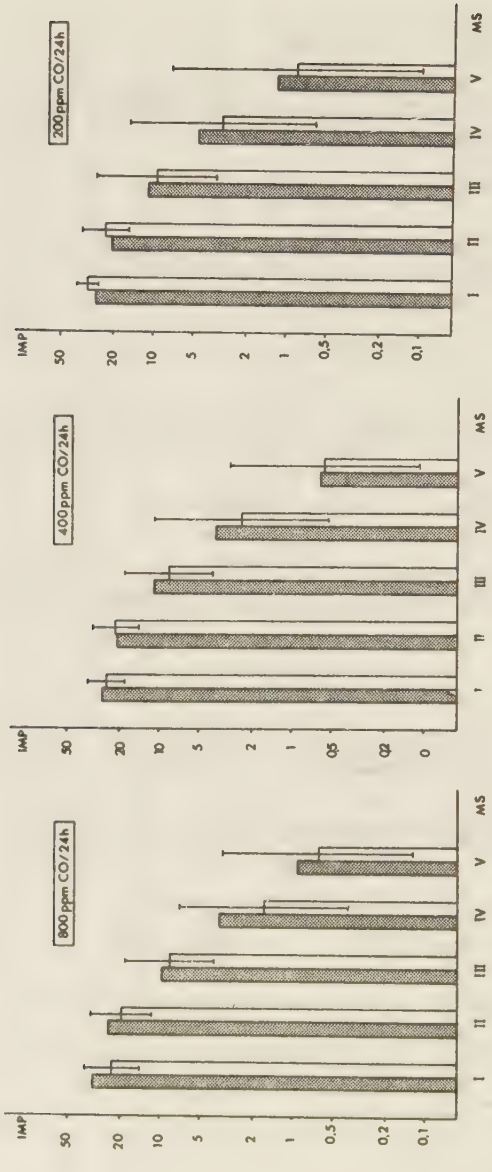

Fig. 13 A

Fig. 14 A

Fig. 15 A

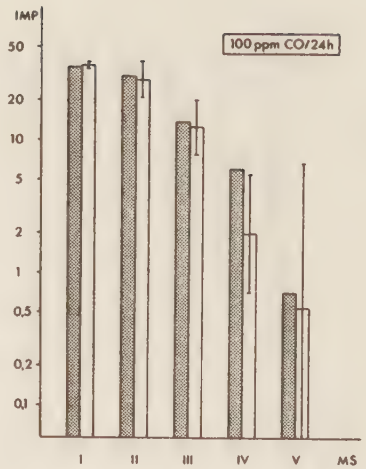

Fig. 16 A

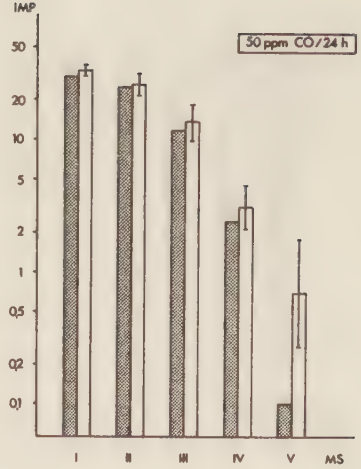

Fig. 17 A

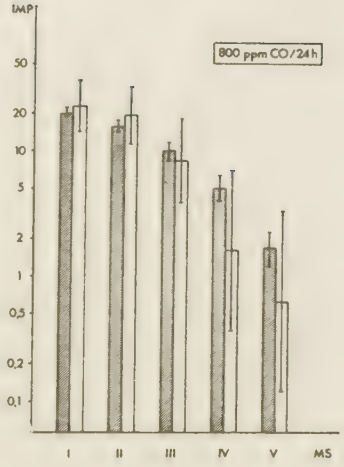

Fig. 13 B

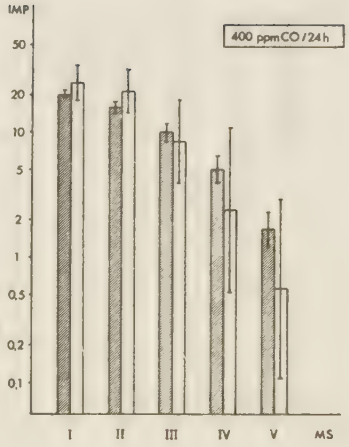

Fig. 14 B

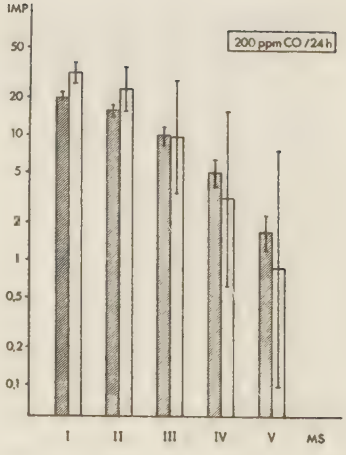

Fig. 15 B

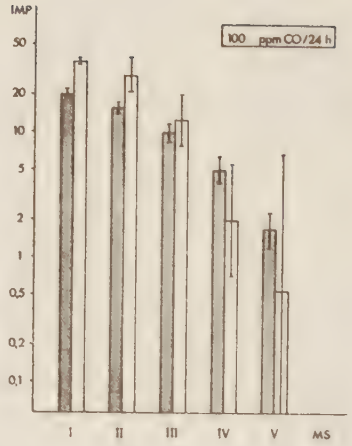

Fig. 16 B

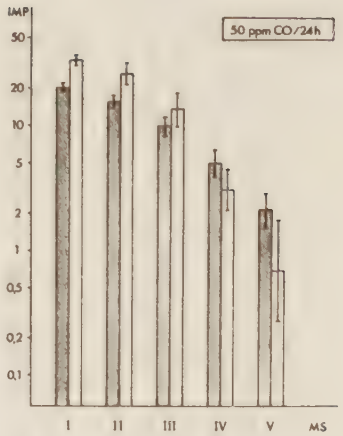

Fig. 17 B

5.4 Tod

Bei den Versuchstieren, deren Nieren 60 Minuten nach dem Tod entnommen worden waren, zeigte sich ein statistisch gesicherter Abfall des Einbaus von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Vergleich zu dem Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers und des Kontrollkollektivs (Fig. 18 A, 18 B).

Bei den Versuchstieren, deren Nieren 30 Minuten nach dem Tod entnommen worden waren, war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere im Vergleich zum Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers im Messstellenbereich IV und V signifikant kleiner (Fig. 19 A). Unter Berücksichtigung der Nieren des Kontrolltierkollektivs war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere im Messstellenbereich IV und V (Fig. 19 B) ebenfalls signifikant kleiner.

Bei den Versuchstieren, deren Nieren 15 Minuten nach dem Tod entnommen worden waren, zeigte der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere keinen signifikanten Unterschied zum Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers (Fig. 20 A) und des Kontrolltierkollektivs (Fig. 20 B). Nur im Messstellenbereich IV und V (Fig. 20 A) war der Einbau in die Nierenrinde der Versuchstiere signifikant kleiner als der Einbau in die Nierenrinde des zugehörigen Kontrolltiers.

Zeit	Tier		Meßstelle I	II	III	IV	V
15 min. p.m.	1		23,2	17,6	10,5	4,3	0,6
	2		19,4	14,4	6,7	4,3	1,8
	3		29,3	25,5	13,5	5,1	1,9
	4		28,9	21,3	14,5	6,1	1,8
	5		19,8	11,0	5,6	2,5	0,6
		GM	23,7	17,2	9,5	4,3	1,2
		VB	18,6 - 30,4	11,4 - 25,9	5,6 - 16,1	2,8 - 6,5	0,5 - 2,5
	6*		28,1	20,8	15,9	8,3	3,9
30 min. p.m.	1		25,0	17,9	12,8	4,1	0,9
	2		18,5	11,8	8,8	2,9	0,3
	3		27,5	11,7	3,3	0,6	0,7
	4		13,8	9,4	5,2	1,9	0,5
	5		14,7	9,6	6,6	2,1	0,6
		GM	19,2	11,7	6,6	2,0	0,6
		VB	13,1 - 28,1	8,5 - 16,2	3,5 - 12,6	0,8 - 4,8	0,3 - 0,9
	6*		16,1	12,7	11,6	6,7	1,2
60 min. p.m.	1		12,3	6,6	3,5	1,1	0,4
	2		9,4	7,3	5,5	2,9	1,7
	3		10,2	3,7	2,9	0,9	0,5
	4		11,1	5,6	3,7	2,8	1,0
	5		10,0	4,1	3,2	1,3	0,6
		GM	10,5	5,3	3,7	1,6	0,7
		VB	9,3 - 12,0	3,7 - 7,6	2,7 - 5,0	0,8 - 3,1	0,4 - 1,5
	6*		18,4	11,5	6,8	5,0	1,3

Tabelle 8: Versuch Tod

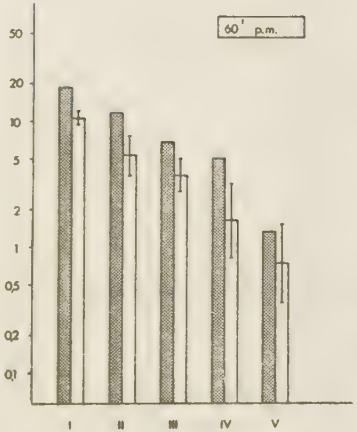

Fig. 18 A

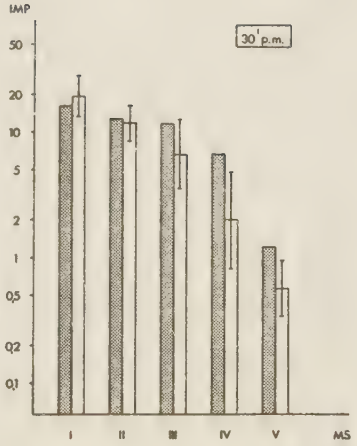

Fig. 19 A

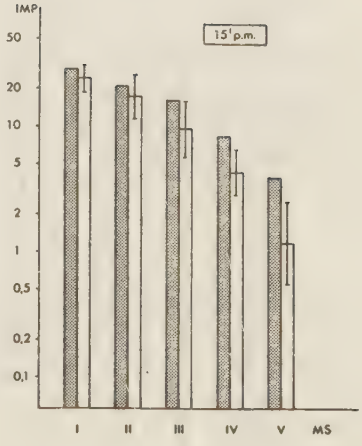

Fig. 20 A

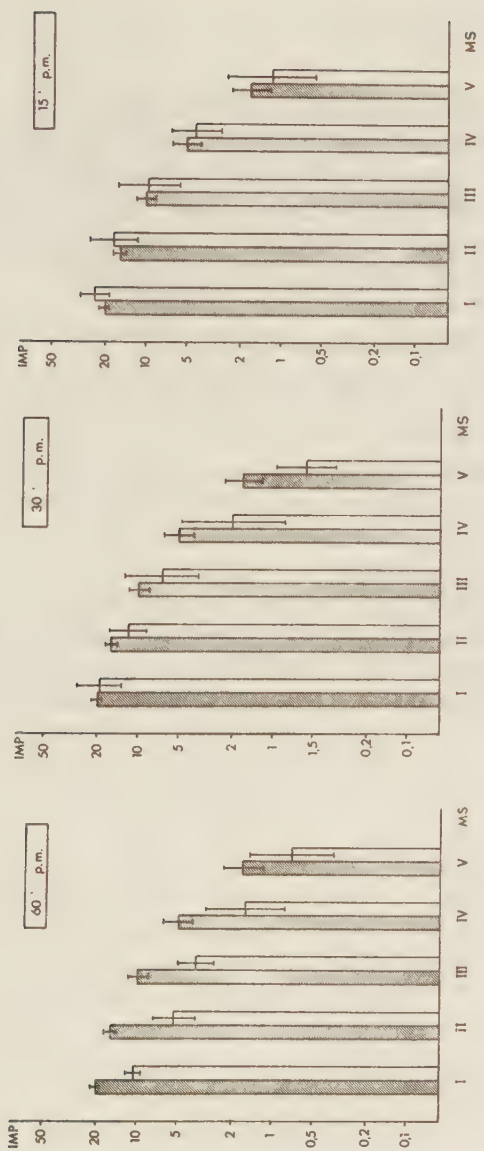

Fig. 18 B

Fig. 19 B

Fig. 20 B

5.5 Zusatzversuche

Um eine eventuelle Schwärzung des Films infolge der verwendeten Noxen Pb^{++}, Cd^{++} und CO auszuschliessen, waren zu jeder Versuchsgruppe Nieren von Tieren hinzugefügt worden, die mit der gleichen Dosis der entsprechenden Noxen behandelt worden waren. Diese Nieren wurden dann in Krebs-Henseleit-Lösung inkubiert, und zwar ohne Zusatz von H3-Leucin.

Im einzelnen sind diese Versuchstiere in den tabellarischen Aufstellungen der zugehörigen Versuche (Blei 1a - 3a, Cadmium 4a - 6a, Kohlenoxid 10a - 17a) berücksichtigt.

Bei der Auswertung dieser nicht mit H3-Leucin markierten Nieren zeigte sich folgendes Ergebnis:

Sowohl bei den Nieren der 34 Tiere, die einer der drei Noxen ausgesetzt worden waren, als auch bei den Nieren von 6 unbehandelten Tieren, ergab sich, dass der Background in der gleichen Grössenordnung lag. Das bedeutet, dass eine Schwärzung des Films nicht durch eine der verwendeten Noxen selbst verursacht wurde.

6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird ein Inkubationsverfahren beschrieben, bei dem die Einbaurate von H3-Leucin in die Rindenperipherie von entkapselten Nieren bestimmt wird. Wie aus der Literatur bekannt ist, kann die Einbaurate von H3-Leucin als Indikator für die Intensität des Proteinstoffwechsels gewertet werden / 29 /. Dieses Verfahren sollte darauf getestet werden, ob es geeignet ist, die Wirkung verschiedener Noxen auf Versuchstiere - im vorliegenden Fall Ratten - zu erfassen.

Die cranialen Nierenhälften der Versuchstiere wurden zusammen mit der Nierenhälfte eines Kontrolltiers 1 Stunde inkubiert und dann fixiert, eingebettet, geschnitten und mit Strippingfilm überzogen. Dieses Verfahren hatte den Nachteil, dass die Mittelwerte der Einbaurate der jeweiligen Versuchsgruppe nur mit den Einzelwerten des zugehörigen Kontrolltiers verglichen werden konnten. Daher wurde zusätzlich aus den Nierenhälften sämtlicher Kontrolltiere ein Kollektiv gebildet. Auf diese Weise war es möglich, die Mittelwerte des Einbaus in die Nieren der jeweiligen Versuchsgruppe mit den Mittelwerten des Kollektivs zu vergleichen. Dieses Verfahren hatte den Vorteil, dass der Vergleich zwischen der Einbaurate in die Nierenrinde der Versuchstiere und der Kontrolltiere auf eine breitere Basis gestellt wurde. Ein Nachteil lag darin, dass die benutzten Inkubationslösungen bei der jeweiligen Versuchsgruppe und bei dem Kontrolltierkollektiv nicht identisch waren. (Allerdings hatten die benutzten Inkubationslösungen die gleiche Zusammensetzung, der Strippingfilm war der gleiche und die Expositionszeit, Entwicklungsdauer und Fixierungsdauer waren gleich.) Daraus resultierende feine Unterschiede in der Behandlung der Nieren der Kontrolltiere untereinander wurden durch Bildung des Mittelwertes aus dem Kontrolltierkollektiv ausgeglichen. Damit gewinnt der Vergleich der einzelnen Versuchsgruppen mit dem Kontrolltierkollektiv eine grössere Aussagekraft

als der Vergleich der einzelnen Versuchsgruppe mit dem dazugehörigen Kontrolltier, dessen Nierenhälfte zusammen mit den Nierenhälften der Versuchsgruppe in der identischen Inkubationslösung war. In der folgenden Diskussion der Ergebnisse werden aus diesem Grund die Mittelwerte der Versuchsgruppen nur mit den Mittelwerten des Kontrolltierkollektivs verglichen.

Die vorliegenden Versuche haben ergeben, dass mit dem angewandten Inkubationsverfahren die Wirkung von Noxen auf ein Organ des Versuchstieres erfasst werden kann, wenn diese in einer bestimmten Grössenordnung liegen.

Das zeigte besonders deutlich der Bleiversuch. Nach Gabe von 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde weder signifikant vermindert noch gesteigert (Fig. 1 B), nach Gabe von 60 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht nur in den Messstellenbereichen I und II erhöht (Fig. 2 B), nach Gabe von 20 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht bis auf den Messstellenbereich IV signifikant gesteigert (Fig. 3 B).

Dieses Ergebnis überrascht in zweifacher Hinsicht: Erstens war der H3-Leucin-Einbau in die Nierenrinde nach Gabe von 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht im Vergleich zur Norm nicht verändert. Zweitens war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Dosis 60 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht sogar gesteigert, was nach Gabe von 20 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht noch deutlicher wurde.

Es fanden sich hier also keine Zeichen einer Beeinträchtigung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde wie erwartet worden war, sondern keine Beeinflussung des H3-Leucin-Einbaus nach Gabe einer hohen Pb^{++}-Dosis und nach Gabe geringer Dosen sogar eine Steigerung. Eine Erklärung für dieses Phänomen lässt sich aus dem hier dargestellten Versuchsaufbau nicht geben.

Das Ergebnis des Cadmium-Versuches lässt keine Aussage über die Beeinflussung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde durch Cadmium zu.

Nach Gabe von 5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht (Fig. 4 B) zeigte der erste Cadmium-Versuch keinen signifikanten Unterschied zwischen der H3-Leucin-Einbaurate in die Nierenrinde der Versuchsgruppe und dem Kontrolltierkollektiv. Im Nachversuch war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde nur im Messstellenbereich IV und V (Fig. 7 B) signifikant kleiner als beim Kontrolltierkollektiv. Nach Gabe von 2,5 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht und 1,25 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde beim ersten Cadmium-Versuch (Fig. 5 B und 6 B) signifikant kleiner als beim Kontrolltierkollektiv. Beim Nachversuch (Fig. 8 B und 9 B) war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde gegenüber der Norm nicht verändert. Das Ergebnis des Nachversuches zeigte, dass Cadmium in den oben genannten Dosen keine Beeinflussung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde verursachte.

Die Differenz im Ergebnis des ersten Cadmium-Versuches und dem des Nachversuches lässt sich aus dem Versuchsaufbau nicht erklären. Der Nachversuch wurde durchgeführt, nachdem aufgefallen war, dass die Werte für die Einbaurate von H3-Leucin in die Rinde der Nierenhälften der zugehörigen Kontrolltiere, die gemeinsam mit den Nierenhälften der Versuchstiere inkubiert worden waren, auffallend niedriger lagen als beim Kontrolltierkollektiv.

Zunächst wurde der Frage nachgegangen, ob eventuell die Cadmium-Ionen aus den Nierenhälften der behandelten Versuchstiere den Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der zugehörigen Nierenhälften des Kontrolltieres beeinflussten. Daher wurde im Nachversuch die craniale Nierenhälfte der Kontrolltiere wie auch in den anderen Versuchen zusammen mit den Nierenhälften der behandelten Ratten inkubiert. Zusätzlich wurde die caudale Nierenhälfte der

Kontrolltiere in ein separates Gefäss mit der gleichen Inkubationslösung gegeben (also ohne Nachbarschaft von Nierenhälften behandelter Versuchstiere).

Dieser Nachversuch ergab jedoch keinen Unterschied im Einbau von H3-Leucin in den cranialen Teil und den caudalen Teil der Nieren der Kontrolltiere, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die Cadmium-Ionen der Nieren der behandelten Tiere den Einbau von H3-Leucin in die im gleichen Gefäss befindlichen Nieren der Kontrolltiere nicht beeinflussten. Da die Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung bei jeder Versuchsdurchführung genau gleich war, muss diskutiert werden, ob das zugesetzte H3-Leucin die Diskrepanzen verursachte.

Für den ersten Cadmium-Versuch war eine H3-Leucin-Lösung verwandt worden, die nicht wie in allen anderen Versuchen frisch vom Hersteller angeliefert worden war, sondern aus alten Beständen stammte. Eine fortgeschrittene Radiolyse des H3-Leucins und damit eine Verminderung der H3-Leucin Konzentration in dieser Lösung könnte den verminderten Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde der Versuchstiere des ersten Cadmium-Versuches erklären. Aus diesem Grund ist noch ein Nachversuch durchgeführt worden, bei dem wie bei allen Versuchen eine frisch angelieferte Lösung verwandt wurde. Das Ergebnis dieses Versuches wurde schon oben diskutiert.

Das Ergebnis des "Kurzzeit"-Versuches mit Kohlenoxid zeigte, dass die Einbaurate von H3-Leucin nach einer 2-stündigen Beatmung mit 3000 ppm Kohlenoxid und 2000 ppm Kohlenoxid im Messstellenbereich I und II signifikant höher war als bei dem Kontrolltierkollektiv. Nach einer 2-stündigen Beatmung mit 1000 ppm Kohlenoxid war die Einbaurate im Messstellenbereich I, II und III signifikant grösser (Fig. 10 B, 11 B, 12 B).

Dieses Ergebnis ist ebenso überraschend wie das des Bleiversuches. Nach einer 2-stündigen Beatmung mit Kohlenoxid lässt sich eine Zunahme des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde feststellen. Eine Erklärung hierfür lässt sich aus diesem Versuchsaufbau nicht geben.

Bei dem "Langzeit"-Versuch mit Kohlenoxid, bei dem die Ratten 24 Stunden lang mit niedrigeren Dosen als beim "Kurzzeit"-Versuch beatmet wurden, zeigte sich ein ähnliches Resultat:

Zunächst waren nach einer 24-stündigen Beatmung mit 800 ppm CO und 400 ppm CO keine signifikanten Unterschiede in der Einbaurate von H3-Leucin zwischen Versuchsgruppe und Kontrolltierkollektiv festzustellen (Fig. 13 B, 14 B). Erst bei der Beatmung mit niedrigeren Dosen zeigte sich ein signifikant grösserer Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde, und zwar nach einer Beatmung von 200 ppm CO im Messstellenbereich I und nach einer 24-stündigen Beatmung mit 100 ppm CO und 50 ppm CO im Messstellenbereich I und II (Fig. 15 B, 16 B, 17 B).

Nachdem hier wieder eine überraschende Erhöhung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde festzustellen war, scheint sich bei dem "Langzeit"-Versuch auch eine dosisabhängige Reaktion des Einbaus zu zeigen. Nach einer 24-stündigen Beatmung mit den hohen Dosen Kohlenoxid war keine Beeinträchtigung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde zu beobachten. Erst bei niedrigeren Dosen trat eine Steigerung des Einbaus von H3-Leucin auf.

Bei allen Ergebnissen der Kohlenoxidversuchsreihe (Fig. 10 B - 17 B) fällt auf, dass sich das Verhältnis von Versuchstieren zu Kontrolltierkollektiv bezüglich der Mittelwerte von peripher zum Nierenmark hin umkehrt. In jeder Versuchsgruppe zeigt sich im Messstellenbereich I und II ein höherer, im Messstellenbereich IV und V ein niedrigerer Einbau in die Versuchstiernieren bezogen auf die der Kontrolltiere.

Bei dem Versuch, bei dem die Nieren nach unterschiedlich langer Verweildauer im toten Organismus entnommen worden waren, entsprach das Ergebnis unseren Erwartungen. Bei den Nieren, die 60 Minuten nach dem Tod der Ratten entnommen worden waren, liess sich ein statistisch gesicherter Abfall des Einbaus von H3-Leucin in die Nierenrinde feststellen (Fig. 18 B). Nach der Nierenentnahme 30 Minuten nach dem Tod war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde im Messstellenbereich IV und V signifikant kleiner (Fig. 19 B). Bei den Nieren, die 15 Minuten nach dem Tod der Ratten entnommen worden waren, war kein signifikanter Unterschied im Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde festzustellen (Fig. 20 B).

Es zeigte sich, dass die Einbaurate von H3-Leucin in die Nierenrinde 60 Minuten nach dem Tod des Organismus deutlich herabgesetzt war. Es war aber auch dann noch ein Einbau nachweisbar. Die Einbaurate von H3-Leucin war 30 Minuten nach dem Tod in der Nierenrinde im Messstellenbereich I und II, die den peripheren Abschnitten der Nierenrinde entsprachen, normal, in den weiter zentral gelegenen Abschnitten, im Messstellenbereich IV und V, jedoch deutlich geringer. Nach der Organentnahme 15 Minuten nach dem Tod zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

Das Ergebnis der Zusatzversuche bewies, dass eine Schwärzung des verwendeten Films durch die Noxen Cadmium, Blei und Kohlenoxid selbst nicht gegeben war.

Die Nieren, die für diesen Versuch verwandt wurden, waren Ratten entnommen worden, die die gleiche Behandlung mit den oben genannten Noxen erfahren hatten wie die Ratten der jeweiligen Versuchsgruppen. Die Nieren wurden dann aber in einer Krebs-Henseleit-Lösung ohne Zusatz von H3-Leucin inkubiert. Der gemessene Background über den Schnitten dieser Nieren unterschied sich nicht vom Background über den Schnitten der Nieren, die unbehandelten Kontrolltieren entnommen worden waren.

Daher konnte aus dem Ergebnis der Zusatzversuche sicher abgeleitet werden, dass eine Schwärzung des verwendeten Films durch den Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde bedingt wurde und nicht durch die verabreichte Noxe selbst.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Verfahren getestet, bei dem der Einbau von H3-Leucin in die Rindenperipherie von entkapselten Rattennieren bestimmt wurde. Die Einbaurate des H3-Leucins diente als Indikator für die Intensität des Proteinstoffwechsels. Es wurde untersucht, ob das Verfahren geeignet ist, Veränderungen im Proteinstoffwechsel der Nierenrinde der Versuchstiere, die unterschiedlichen Noxen ausgesetzt worden waren, festzustellen.

100 Ratten, die zu 20 Versuchsgruppen zusammengefasst und verschiedenen Noxen in unterschiedlicher Stärke ausgesetzt worden waren, wurde die linke Niere entnommen. Die Nieren wurden entkapselt und halbiert. Die fünf cranialen Nierenhälften der Ratten einer Versuchsgruppe wurden dann zusammen mit der Nierenhälfte eines unbehandelten Kontrolltiers (im Cadmium-Nachversuch waren es je 5 Kontrolltiere) in einer Krebs-Henseleit-Lösung, der H3-Leucin zugegeben wurde, inkubiert und dann fixiert, eingebettet, geschnitten und mit Strippingfilm überzogen. Danach wurde die Intensität des Einbaus von H3-Leucin in die Nierenrinde autoradiographisch bestimmt (automatische Silberkornzählung mit dem Mikroskopphotometer MPV der Firma ERNST LEITZ GmbH).

Die gleiche Behandlung erfuhren 34 weitere Ratten der Zusatzversuche und die 6 zugehörigen Kontrolltiere. Im Unterschied zum oben beschriebenen Versuchsablauf wurden die Nierenhälften dieser Tiere in Krebs-Henseleit-Lösung ohne Zusatz von H3-Leucin inkubiert.

Die Ergebnisse zeigen, dass das angewandte Inkubationsverfahren geeignet ist, die Wirkung von Noxen auf ein Versuchstierorgan zu erfassen:

Nach der Behandlung mit 60 mg Pb^{++}/kg und 20 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht war der Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde gesteigert. Nach der Behandlung mit 180 mg Pb^{++}/kg Körpergewicht zeigte sich kein signifikanter Unterschied gegenüber der Norm.

Auch bei den Versuchen, bei denen die Ratten einer Kohlenoxidbeatmung ausgesetzt waren, zeigte sich ein signifikant höherer Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde. Das zeigte sich nach der zweistündigen Beatmung mit 3000 ppm CO, 2000 ppm CO und 1000 ppm CO und nach einer 24-stündigen Beatmung mit 200 ppm CO, 100 ppm CO und 50 ppm CO. Nach einer 24-stündigen Beatmung mit 800 ppm CO und 400 ppm CO war kein signifikanter Unterschied gegenüber der Norm festzustellen.

Nach der Behandlung mit den Dosen 5 mg Cd^{++}/kg, 2,5 mg Cd^{++}/kg und 1,25 mg Cd^{++}/kg Körpergewicht war keine Beeinflussung des H3-Leucin-Einbaus in die Nierenrinde festzustellen.

Nach unterschiedlich langer Verweildauer der Nieren im toten Organismus war ein deutlicher Abfall des Einbaus von H3-Leucin in die Nierenrinde festzustellen. Bei den Nieren, die 60 Minuten nach dem Tod dem Organismus entnommen wurden, war ein deutlicher Abfall im Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde zu erkennen, es war aber noch ein Einbau zu verzeichnen. Nach 30 Minuten war in den peripheren Abschnitten der Nierenrinde ein normaler H3-Leucin-Einbau zu erkennen, in den weiter zentral gelegenen Abschnitten der Nierenrinde zeigte sich jedoch ein deutlicher Abfall des Einbaus von H3-Leucin. Bei den Nieren, die den Ratten 15 Minuten nach dem Tod entnommen worden waren, war kein signifikanter Unterschied im Einbau von H3-Leucin in die Nierenrinde gegenüber der Norm zu erkennen.

Das Resultat der Zusatzversuche zeigte deutlich, dass eine Schwärzung des verwendeten Films durch die Noxen Blei, Cadmium und Kohlenoxid selbst nicht verursacht wurde sondern durch das eingebaute H3-Leucin.

Literaturverzeichnis

/1/ BERG, S. P.: Grundriss der Rechtsmedizin. Gerichtlich. Med.-Sammlung, 8. Auflage 1968, München

/2/ BEYERMANN, K.: Chemie für Mediziner. - Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1971

/3/ BROCKHAUS, A.: Quantitativer Nachweis von Blei, Cadmium und Zink im Blut und Organen. In: Lufthygiene und Silikoseforschung. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. - Essen: Giradet (1974). XV, 437 S.
= Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung, Jahresbericht 1973, Bd 6

/4/ BURCK, H.-Ch.: Histologische Technik. - Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1969

/5/ CUMBROWSKI, J., RAFFKE, W.: Cadmium - Ein Schadfaktor in der menschlichen Umwelt. In: Zeitschrift für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete, Heft 1, Jg. 21. Hrsg. v. d. Gesellschaft für die gesamte Hygiene der DDR - Berlin 1975

/6/ DOERR, W.: Organpathologie - Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1974, Bd 1

/7/ DÖRMER, P.: Erfahrung mit photometr. Silberkornzählung in der Autoradiographie, Leitz-Mitt. Wiss. und Rechn., Bd 4, Nr. 3, S. 74 - 78, Wetzlar, Aug. 1967

/8/ EDER, M., GEDIGK, P.: Lehrbuch der Allgem. Pathologie und patholog. Anatomie. - Berlin, Hedelberg, New York: Springer Verlag 1974

/9/ FODOR, G. G.: Kohlenmonoxid als Imissionskomponente aus Autoabgasen. In: Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung. Jahresbericht 1970. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. - Düsseldorf: Triltsch (1971), S. 58 - 62

/10/ FODOR, G. G.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Auswirkung von Kohlenoxidvergiftungen bei Beeinträchtigung des Hirnkreislaufs durch Carotisligatur. Sonderdruck aus "Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak." Bd 264, Heft 3 (1969), S. 229, 10. Frühjahrstagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft Mainz, März 1969. - Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag (1969)

/11/ FODOR, G. G., WINNEKE, G.: Unterschiedliche Affinitätskoeffizienten von CO zum Hämoglobin bei Mensch und Tier. Zbl. Bakt., Abt. I, Ref., 224 (1971), 15

/12/ FODOR, G. G., WINNEKE, G.: Kohlenmonoxid. In: Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung. Jahresbericht 1971. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. - Düsseldorf: Triltsch (1972). S. 73 - 74

/13/ FORTH, W., HENSCHLER, D., RUMMEL, W.: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. - Mannheim, Wien, Zürich: Bibliographisches Institut 1975

/14/ FRIBERG, L.: Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning. Stockholm: Acta med. Scand (1950), 138 Suppl. 240

/15/ GHELERTER, L.: Störungen der Hämsynthese als Kriterium der Bleiwirkung. In: Lufthygiene und Silikoseforschung. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. - Essen: Giradet (1975). XII, 100 S.
= Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung, Jahresbericht 1974, Bd 7

/16/ GÜTGEMANN, A., KÄUFER, C.: Organentnahme und Transplantation. In: Dtsch. med. Wschr. 96, 609 - 614 (1971)

/17/ HÄNTZSCH, S., KAFFANKE, K., NIETRUCH, F.: Bleibestimmung in Strassenstaub mittels Absorptionsspektrophotometrie. In: Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung. Jahresbericht 1972. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e. V., Düsseldorf. - Dinslaken: Niederrh. Dr. 1973

/18/ KAFFER, H.-R.: Das Krankheitsbild der gewerblichen Vergiftung durch Cadmium oder seine Verbindungen. Dissertation - Bonn 1961

/19/ KRAUSE-FABRICIUS, G., HILSCHER, W.: Spezielle Wirkungen von Cadmium. In: Lufthygiene und Silikoseforschung. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e. V., Düsseldorf - Essen: Giradet (1977), S.123 = Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung, Jahresbericht 1976, Bd 9

/20/ KOSTIAL, K., MALJOVIC, T., JUGO, S.: Lead Acetate Toxicity in Rats in Relation to Age & Sex. In: Arch. Toxic, 31, 265 - 269. - Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1974

/21/ KREBS, H. A., HENSELEIT, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. In: Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd 210. - Berlin, Leipzig: Walter de Gruyter & Co. 1932

/22/ LARSSON, J. E.: Cadmium in Man's Environment for the W.H.O. regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark 1973

/23/ LENK, R., GELLERT, W.: Fachlexion ABC Physik. - Zürich, Frankfurt: Harry Deutsch 1974

/24/ LUCIS, O. J. et al.: Arch. Environment Health, 25, 1972, 1, 14

/25/ NORDBERG, G.: Effects and Dose Response Relationship of Toxic Metals. - Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier Scientific Publishing Company 1976

/26/ RINKLER, U.: Tierexperimente über die Resorptionsquote von Blei nach oraler Aufnahme und nach Applikation in die Lunge. Dissertation - Düsseldorf 1970

/27/ SANDRITTER, W., BENEKE, G.: Allgem. Pathologie. - Stuttgart, New York: F. K. Schattauer Verlag 1974

/28/ SCHLIPKÖTER, H.-W., POTT, F.: Die gesundheitliche Bedeutung von Blei. In: Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung. Jahresbericht 1972. Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e. V., Düsseldorf. - Dinslaken: Niederrh. Dr. 1973. 441 S.

/29/ SCHULTZE, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweissstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie II/5. - Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1968)

Herrn Prof. Dr. H.-W. Schlipköter danken wir für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes an dem unter seiner Leitung stehenden Institut.

Herrn Prof. Dr. W. Hilscher danken wir herzlich für die Vergabe des Themas, die Betreuung der Arbeit sowie seine stete Bereitschaft zu kritischer Diskussion.

Frau Grover und den Mitarbeitern von Herrn Prof. Dr. W. Hilscher danken wir für ihre Hilfe.

Für die Anregungen und Beratung bedanken wir uns bei Herrn Dr. Fodor und Herrn Dr. Winneke.

Ulrich Tritz

L e b e n s l a u f

Am 20. April 1948 wurde ich in Düsseldorf geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich die Grundschule in Düsseldorf und von 1958 bis 1965 das Neusprachliche Gymnasium in Düsseldorf, Aachen und Ratingen.

Von 1965 bis 1968 machte ich eine Betriebsschlosserlehre bei der Firma Daimler-Benz AG in Düsseldorf und bestand am 31. März 1968 die Facharbeiterprüfung.

Von 1968 bis 1972 absolvierte ich ein Ingenieurstudium in der Fachrichtung Kerntechnik an der Fachhochschule Aachen, Abteilung Jülich und bestand die staatliche Abschlussprüfung am 20. Juni 1972.

Im Wintersemester 1972/73 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin. Am 3. Sept. 1973 bestand ich dort die naturwissenschaftliche Vorprüfung.

Im Sommersemester 1974 wechselte ich an die Universität Düsseldorf und bestand dort am 7. März 1975 die Zahnärztliche Vorprüfung.

Felicitas Tritz-Rommerskirchen

L e b e n s l a u f

Am 4. Mai 1948 wurde ich als Tochter meiner Eltern, Hans Rommerskirchen und seiner Frau Anneliese, geb. Franz in Krefeld geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich die Volksschule in Krefeld, von 1958 bis 1967 das Neusprachliche Mädchengymnasium der Ursulinen in Krefeld und bestand dort 1967 das Abitur.

Nach einem Auslandaufenthalt in England war ich von 1969 bis 1971 als Stewardess bei der Deutschen Lufthansa AG in Frankfurt im interkontinentalen Streckeneinsatz tätig.

Von 1971 bis 1972 besuchte ich die Staatliche Handelsschule in Rheydt, Abteilung Höhere Handelsschule.

1973 begann ich das Medizinstudium an der Universität Düsseldorf.

Am 21. März 1975 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und am 30. März 1976 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Düsseldorf.

Im Wintersemester 1975/76 immatrikulierte ich mich zusätzlich für Zahnmedizin und bestand am 11. Okt. 1976 die Zahnärztliche Vorprüfung in Düsseldorf.